

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1938

N°

38

THESE

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

PAR

Robert FASQUELLE

Interne des Hôpitaux de Paris

né le 20 février 1903 à Paris

LE SÉRUM ANTI-VACCIN

Contribution à l'Etude de son Pouvoir Virulicide

*Travail de l'Institut Supérieur de Vaccine
de l'Académie de Médecine*

PRÉSIDENT : M. Maurice VILLARET, Professeur

J. PEYRONNET & Cie, ÉDITEURS

7, Rue de Valois, PARIS-1^{er}

1938

THESE

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

PAR

Robert FASQUELLE

Interne des Hôpitaux de Paris

né le 20 février 1908 à Paris

LE SÉRUM ANTI-VACCIN

Contribution à l'Etude de son Pouvoir Virulicide

*Travail de l'Institut Supérieur de Vaccine
de l'Académie de Médecine*

PRÉSIDENT : M. Maurice VILLARET, Professeur

J. PEYRONNET & Cie, ÉDITEURS

7, Rue de Valois, PARIS-1^{er}

THÈSE

Présentée

DOCTORAT EN MÉDECINE

Par

Robert VASQUELLE

Docteur en médecine de Paris

né le 21 février 1884 à Paris

LE SÉRUM ANTI-VACCIN

Contribution à l'étude de son Pouvoir Virucide



PRESIDENT DU JURY: M. LE DOCTEUR VASQUELLE

IMPRIMERIE: M. LE DOCTEUR VASQUELLE

2, Rue de Valenciennes

I. — PROFESSEURS

Anatomie	MM.
Physiologie	ROUVIÈRE.
Physique médicale	Léon BINET.
Chimie médicale	STROHL.
Bactériologie	POLONOVSKI.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	Robert DEBRÉ.
Pathologie et thérapeutique générale	BRUMPT.
Pathologie médicale	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale	ABRAMI.
Anatomie pathologique	CHEVASSU.
Histologie	ROUSSY.
Pharmacologie et matière médicale	CHAMPY.
Thérapeutique	TIFFENEAU.
Hygiène et médecine préventive	HARVIER.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	TANON.
Médecine légale	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée	BALTHAZARD.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	FIESSINGER.
	CHIRAY
Clinique médicale	{ LOEPER.
	{ CARNOT.
	{ CLERC.
	{ Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance	{ LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	{ NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	{ H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	{ GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	{ GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	{ LEMIERRE.
	{ CUNÉO.
Clinique chirurgicale	{ GOSSET.
	{ GRÉGOIRE.
	{ LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	{ TERRIEN.
Clinique urologique	{ MARION.
	{ BRINDEAU.
Clinique d'accouchements	{ COUVELAIRE.
	{ JEANNIN.
Clinique gynécologique	{ MOCQUOT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	{ OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	{ RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	{ LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	{ Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	{ Maurice VILLARET.
Clinique de la Tuberculose	{ BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	{ MATHIEU.
Clinique cardiologie	{ LAUBRY.
	{ HOVELACQUE.
Professeurs sans chaire	{ MULON.
	{ OLIVIER.
	{ VERNE.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

AMELINE	Pathologie chirurgicale.
BARIETY	Pathologie médicale.
BÉNARD (Henri)	Pathologie médicale.
BERNARD Etienne	Pathologie médicale.
BESANÇON (Justin)	Hydrologie.
BOULIN	Pathologie médicale.
BULLIARD	Histologie.
CATHALA	Pathologie médicale.
CHEVALLIER	Pathologie médicale.
COSTE	Pathologie médicale.
DOGNON	Physique.
FEY	Urologie.
FUNCK	Pathologie chirurgicale.
GALLIARD	Parasitologie.
GASTINEL	Bactériologie.
DE GAUDART D'ALLAINES	Pathologie chirurgicales.
GAYET	Physiologie.
DE GENNES	Pathologie médicale.
GIROUD	Histologie.
HAGUENAU	Pathologie médicale.
HALPHEN	Oto-rhino-laryngologie.
HAZARD	Pharmacologie.
HUGUENIN	Anatomie pathologique.
JOANNON	Hygiène.
LACOMME	Obstétrique.
LANTUÉJOUL	Obstétrique.
LAROCHE (Guy)	Pathologie médicale.
LELONG	Pathologie médicale.
LEMAIRE	Pathologie expérimentale.
LEVEUF	Pathologie chirurgicale.
Mlle J. LÉVY	Pharmacologie.
LÉVY-VALENSI	Neurologie et Psychiatrie.
MÉNÉGAUX	Pathologie chirurgicale.
MOLLARET	Pathologie médicale.
MOREAU	Pathologie médicale.
MOULONGUET	Pathologie chirurgicale.
MOUQUIN	Pathologie médicale.
OBERLING	Anatomie pathologique.
PETIT-DUTAILLIS	Pathologie chirurgicale.
PIÉDELIEVRE	Médecine légale.
PORTES	Obstétrique.
RENARD	Ophthalmologie.
RICHEF	Physiologie.
SANNIÉ	Chimie biologique.
SÈNÈQUE	Pathologie chirurgicale.
TROISIER	Pathologie expérimentale.
TURPIN	Pathologie médicale.
VIGNES	Obstétrique.
WILMOTH	Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE pour le service des examens

MM.

ALGLAVE	Pathologie chirurgicale.
BUSQUET	Pharmacologie.
CHAILLEY-BERT	Physiologie.
GUENIOT	Obstétrique.
LARDENNOIS	Pathologie chirurgicale.
LEROUX	Anatomie pathologique.
NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.
VAUDESCAL	Obstétrique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent

MM.

ALAJOUANINE	Clinique médicale.
AUBERTIN	
BRULÉ	
CHABROL	
DONZELOT	
DUVOIR	
LIAN	
PASTEUR-VALLERY-RADOT	Clinique Chirurgicale.
SÉZARY	
BASSET	
BROCQ	
CADENAT	
GATELLIER	
HEITZ-BOYER	
MOURE	Clinique obstétricale.
QUENU	
SCHWARTZ	
VELTER	
ECALLE	
LE LORIER	
LEVY-SOLAL	
METZGER	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
RUPPE	Stomatologie.
WEIL-HALLE	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE

DE MON GRAND-PERE

le Docteur SAINT-YVES-MENARD

Membre de l'Académie de Médecine

Directeur de l'Institut de Vaccine

DE MON PERE

le Docteur ANDRE FASQUELLE

Directeur de l'Institut de Vaccine

Médecin-Chef

du Centre Vaccinogène de l'Armée (1914-1918)

mort le 24 septembre 1937

DE MA MERE

Yvonne FASQUELLE SAINT-YVES-MENARD

morte le 5 avril 1937

DE MON ONCLE

PIERRE SAINT-YVES-MENARD

Interne des Hôpitaux de Paris (1913)

tué aux Eparges (1915)

A LA MEMOIRE

de Monsieur le Docteur L. CAMUS

Membre de l'Académie de Médecine
Directeur de l'Institut Supérieur de Vaccine

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur MAURICE VILLARET

*Membre de l'Académie de Médecine
Professeur de Clinique Médicale Propédeutique
Médecin de l'Hôpital Broussais-la Charité*

Vous m'avez fait le très grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Je ne sais comment vous exprimer mon admiration pour votre grand talent d'Enseigneur et d'Organisateur — et ma reconnaissance pour votre bienveillance envers moi.

Je resterai toujours votre élève dévoué.

A Monsieur le Docteur ANTOINE BECLERE

*Membre de l'Académie de Médecine
Médecin honoraire des Hôpitaux*

Vous avez bien voulu reporter sur le
petit fils les sentiments d'affection qui
vous liaient au grand-père.

Ce travail, inspiré par vos recherches
d'antan, est un modeste témoignage de
ma reconnaissance à votre égard

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur Agrégé HENRI BENARD

Médecin de l'Hôtel-Dieu

Directeur de l'Institut Supérieur de Vaccine

Vous avez inspiré ce travail ; jour par jour, vous m'avez guidé dans sa réalisation.

A l'Hôtel-Dieu où j'étais votre Interne, comme à l'Institut Supérieur de Vaccine, vous avez été pour moi « le Patron », c'est-à-dire à la fois le Maître qui enseigne et l'Ami qui conseille.

Veillez trouver ici l'hommage de ma profonde admiration et de mon affectueuse gratitude.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur EMILE SERGENT

*Membre de l'Académie de Médecine
Médecin de l'Hôpital de la Charité*

En première année de médecine, j'ai été votre stagiaire; en quatrième année d'Internat, vous avez bien voulu m'accueillir à nouveau.

De ce double séjour dans votre service, je conserverai toujours le souvenir enthousiaste.

A Monsieur le Professeur TANON

Membre de l'Académie de Médecine
Professeur d'Hygiène et de Médecine préventive

En hommage respectueux

A MON MAITRE

Monsieur le Docteur GEORGES FAROY

Médecin de l'Hôpital Bichat

Comme Externe, puis comme Interne, vous m'avez fait profiter de votre enseignement. Quand la maladie rôda autour des miens, aussitôt vous êtes accouru à mon aide.

De cette double dette de reconnaissance, je ne pourrai jamais me libérer.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur Agrégé

L. JUSTIN BESANÇON

Médecin des Hôpitaux
Docteur ès sciences

Je tiens à vous dire combien, au cours de vos visites dans les salles, j'apprécie votre enseignement, alliant le respect de la traditionnelle Clinique « à la française » à la précision des connaissances scientifiques les plus modernes.

A MES MAITRES DES HOPITAUX

Externat :

Monsieur le Professeur Agrégé P. DESCOMPS
(en mémoire)

Monsieur le Docteur de MASSARY

Monsieur le Docteur FAROY

Monsieur le Docteur DEVRAIGNE

Monsieur le Docteur DECOURT

Externat en premier :

Monsieur le Professeur Agrégé SÉZARY

Monsieur le Professeur Agrégé MOREAU

Monsieur le Docteur RACHET

Monsieur le Docteur René BLOCH

Internat :

Monsieur le Professeur Agrégé GARNIER

Monsieur le Docteur FAROY

Monsieur le Professeur Agrégé Henri BÉNARD

Monsieur le Docteur Marcel PINARD

Monsieur le Professeur Emile SERGENT

Monsieur le Professeur Maurice VILLARET

En témoignage de sincère gratitude.

A MES MAÎTRES
DE L'INSTITUT PASTEUR

Monsieur le Professeur BORREL
(*en mémoire*)
Monsieur le Professeur J. BORDET
Monsieur le Professeur LEVADITI
Monsieur le Professeur LEGROUX
Monsieur le Professeur J. DUMAS
Monsieur le Professeur LÉPINE

Vous m'avez fait profiter de votre précieux enseignement au grand Cours de Microbiologie de l'Institut Pasteur ; vous avez bien voulu ultérieurement continuer à me prodiguer vos conseils. Croyez à ma respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Docteur DEMANCHE

*Chef du Laboratoire de Sérologie
de l'Hôpital Cochin
Professeur à l'Institut Alfred Fournier*

Vous m'avez initié aux mystères de la Sérologie; vous m'avez appris à les soumettre constamment au contrôle de la Clinique. Je vous en garde une grande reconnaissance.

A Monsieur le Docteur JACQUES DELARUE

*Assistant d'Anatomie pathologique
à la Faculté de Médecine*

Depuis le début de mes études médicales, vous m'avez instruit, dirigé, conseillé. Croyez à toute mon affection.

A Mademoiselle le Docteur TISSIER
Chef de Laboratoire à la Faculté de Médecine

A Mademoiselle le Docteur RATNER

Institut Supérieur de Vaccine

Dans la réalisation de ce travail, vous
m'avez constamment apporté une aide
bienveillante; veuillez croire à mes re-
merciements très sincères.

À MES AMIS

Marcel Valet-Bellot. — Charles Hanrion. — Louis
Guillaumat. — Charles Debray. — Raymond Trotot.
— Jacques Dugas. — Raoul Perrot. — André Roy.

En souvenir des sous-colles d'Externat et d'Internat.

LE SÉRUM ANTI-VACCIN

*Contribution à l'Etude
de son Pouvoir Virulicide*

INTRODUCTION

Dans l'expression : Sérum Anti-Vaccin, nous donnons au mot Vaccin son sens étymologique : Virus du cow-pox ou de la vaccine; c'est là sa signification originelle. Et nous rappellerons que si le mot vaccin a aujourd'hui un sens beaucoup plus étendu, c'est parce que Pasteur, en hommage à la découverte de Jenner, proposa de l'utiliser pour désigner tout germe infectieux administré à titre préventif.

Cette question terminologique éclaircie, nous avons un regret à exprimer : celui de présenter un travail moins complet que nous ne l'aurions désiré. En effet, quand, il y a trois ans, nous avons, sur le conseil de notre Maître, M. Henri Bénard, commencé cette étude, nous pensions la mener à bout. Nous avons donc établi un plan de travail réparti sur quatre ans, que nous avons d'ailleurs à peu près suivi. Sur la plupart des questions envisagées, nous avons réalisé un certain nombre d'expériences, destinées à faire autant de sondages, pour préciser les points qui s'avéreraient indispensables

à développer ultérieurement. Nous réservions pour la quatrième année les expériences complémentaires. De tristes circonstances nous obligent à présenter notre thèse inaugurale dès maintenant; notre travail se trouve ainsi plus limité : sur certains problèmes, les expériences réalisées sont en trop petit nombre pour que nous puissions en tirer autre chose que des conclusions provisoires; il est d'autres chapitres, qui ne sont qu'à peine ébauchés, alors qu'ils auraient nécessité de multiples recherches et de grands développements. Enfin, il est un certain nombre d'expériences en cours, dont naturellement nous n'avons pu tenir compte. Nous considérons donc beaucoup plus ces quelques pages comme l'exposé d'un plan de travail, que comme le protocole définitif de recherches menées à terme. Nous espérons ultérieurement présenter dans un Mémoire la réponse à bien des questions que nous nous contentons de poser aujourd'hui.

En entreprenant ce travail, nous nous proposons, sur le conseil de M. Henri Bénard, un double but :

— But théorique : élucider quelques points permettant peut-être de serrer de plus près le problème de l'immunité dans la vaccine.

— But pratique : nous procurer un sérum suffisamment actif pour espérer qu'il puisse être utile dans le traitement de certaines complications de la vaccine, et avant tout de l'encéphalite post-vaccinale.

HISTORIQUE

Le 14 mai 1796, Edouard Jenner, médecin de campagne à Berkeley (comté de Gloucester), réalisait une idée géniale : ayant remarqué que les vachers, qui contractaient le cow-pox au cours des soins donnés aux bêtes, n'étaient jamais atteints de variole, il inoculait à un jeune garçon, James Phips, le contenu d'une pustule que présentait sur la main une servante, Sarah Nelmes, elle-même contaminée par une vache; quelques mois plus tard, il variolisait l'enfant; la variole ne prenait pas. La prévention de la variole par la vaccine était prouvée; la vaccination était découverte.



Cette découverte devait être le point de départ de travaux innombrables; parmi les chercheurs, les uns s'ingénierent avant tout à étendre la réalisation pratique de la méthode : la vaccination de génisse à bras

remplaça bientôt la vaccination de bras à bras, éliminant ainsi le danger de la syphilis vaccinale; la conservation du virus par le froid permit d'éviter le transport des génisses vaccinifères et d'utiliser le vaccin en tubes; l'emploi des comprimés de vaccin sec, résistant aux fortes températures, facilita la prévention de la variole dans les pays tropicaux. D'autres étudièrent les divers procédés de culture du virus vaccinal : le cheval, l'âne, le lapin, le cochon, le buffle furent tour à tour utilisés pour la récolte du vaccin, après inoculation cutanée; le cerveau, le testicule, l'épiploon du lapin se révélèrent aptes à l'enrichissement du virus; durant ces dernières années, la culture du virus vaccinal fut réussie sur les tissus en culture, sur la membrane chorio-allantoïdienne de l'œuf de poule, mieux même : en tubes contenant des extraits embryonnaires et du liquide de Tyrode. Certains constatèrent et cherchèrent à expliquer les manifestations allergiques au cours des revaccinations. D'autres enfin donnèrent tous leurs soins à l'étude de l'immunité dans le vaccine et dans la variole.

C'est sur ces dernières recherches, celles portant sur l'immunité variolo-vaccinale, que nous voulons insister.



A la suite de Jenner, on imagina longtemps que la pustule vaccinale était indispensable à la réalisation de l'immunité. Les premières constatations importantes furent faites entre 1865 et 1876 : Raynaud montra que la destruction de la pustule (excision ou cautérisation)



FASQUELLE

Expérience de Bécclère, Chambon et Saint-Yves Ménard

Inoculation d'un mélange vaccin-sérum : pustules absentes ou avortées

n'empêchait pas l'installation de l'immunité; Chauveau, inoculant la lymphe vaccinale dans le tissu cellulaire sous-cutané, chez le cheval, le bœuf et l'enfant, réalisa la « vaccine sans exanthème ». Raynaud d'une part, Chauveau d'autre part, eurent alors (1877-1878) l'idée d'étudier le rôle du sang dans la transmission de l'immunité vaccinale. Raynaud inocula sous l'épiderme d'enfants non vaccinés une petite quantité de sang prélevée chez des vaccinifères; il n'obtint ni pustule, ni immunité; il eut recours ensuite à la transfusion du sang. Il fit à une génisse neuve une injection intra-veineuse de 250 cc. de sang prélevé chez une génisse au sixième jour de l'éruption vaccinale; quatorze jours plus tard, il constata que cette génisse était devenue réfractaire à la vaccine. Mais, ainsi qu'il le reconnut l'année suivante, il ne s'était pas mis à l'abri d'une contamination fortuite par le vaccin; et de multiples expériences de contrôle confirmèrent que l'injection intra-veineuse à une génisse neuve de 250 cc. de sang de génisse en pleine éruption vaccinale ne transmet pas l'immunité. Chauveau, en se plaçant dans les mêmes conditions, ne réussit pas davantage à transmettre l'immunité par injection intra-veineuse, à un cheval neuf, de 1.000 grammes prélevés chez un cheval en pleine éruption. « Cela ne veut pas dire, conclut-il, que le virus n'existe pas dans le sang; la seule signification incontestable, c'est que le sang de chevaux en pleine éruption vaccinale est si pauvre en matière virulente qu'on peut prendre 500 ou 1.000 grammes de ce sang, sans être sûr d'y trouver une quantité de matière virulente capable d'infecter un sujet sain, par transfusion. » Cette conclusion s'avéra parfaitement

exacte, puisque, en 1889, Straus, Chambon et Saint-Yves Ménard montrèrent que seule l'injection intra-veineuse de quantités considérables de sang (4, 5, 6 litres) prélevé chez des génisses en pleine éruption vaccinale, est capable de transférer l'immunité à une génisse neuve; ils en conclurent que « le microbe (encore inconnu) de la vaccine existe dans le sang, en pleine période éruptive, mais en très petite quantité ». En opposition avec cette expérience, ils ne réussirent pas à transmettre l'immunité, en prélevant le sang, non plus en pleine éruption vaccinale, mais 7 semaines après la vaccination. Pour la première fois, les résultats de Straus, Chambon et Saint-Yves Ménard laissaient entrevoir une différence d'action entre le sang prélevé au moment de l'éruption vaccinale et le sang prélevé après la guérison de cette éruption; mais l'hypothèse ne fut pas nettement formulée. Et cela ne doit pas nous étonner si nous voulons bien, par l'esprit, nous reporter à cette époque : l'immunité passive n'était pas distinguée de l'immunité active.



C'est deux ans plus tard seulement, à la fin de l'année 1892, que Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard, à la suite des expériences de Richet et Héricourt, et des travaux de Behring et Kitasato, eurent l'idée de rechercher si le sérum de génisses vaccinées, prélevé après la guérison de l'éruption, possédait des propriétés préventives et thérapeutiques sur la vaccine. De leurs

recherches, poursuivies pendant trois ans, ils publièrent les résultats en deux mémoires le 25 janvier 1896 et le 25 décembre 1898.

Apprécient les degrés variables de l'immunité par trois signes :

— l'insuccès complet d'un certain nombre d'inoculations,

— l'aspect rudimentaire ou avorté des éléments éruptifs,

— l'atténuation de virulence du contenu de ces éléments,

ils purent opposer :

l'effet immunisant de l'injection sous-cutanée de sérum anti-virulent, effet à manifestation rapide, effet préventif très net, si l'injection est faite avant l'inoculation témoin de virus vaccinal, effet thérapeutique d'autant plus faible que l'injection est faite plus longtemps après l'inoculation témoin de virus, effet d'autant plus marqué que le sérum est injecté à plus fortes doses, effet caractérisé en général par une immunité incomplète,

à l'effet immunisant de l'injection sous-cutanée de virus vaccinal, effet à manifestation tardive, effet préventif parfait, si l'injection est faite huit jours avant l'inoculation témoin de virus vaccinal, effet préventif de moins en moins net si l'injection s'échelonne entre huit et trois jours avant l'inoculation témoin, effet nul préventif ou thérapeutique, si l'injection est faite moins de trois jours avant l'inoculation témoin ou après celle-ci, effet sans rapports, semble-t-il, avec la ou les doses injectées, effet caractérisé par une immunité complète, si l'injection précède de huit jours l'inoculation témoin.

Ainsi les recherches de Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard leur permettaient de définir les caractères différentiels de l'immunité active et de l'immunité passive; en outre, elles montraient que l'étude de l'immunisation passive dans la vaccine pouvait être d'une grande signification théorique pour cette méthode en général; elles laissaient espérer l'utilisation pratique de la sérothérapie vaccinale dans le traitement de la variole; enfin elles leur faisaient envisager une hypothèse sur le mécanisme possible de l'immunité : l'existence dans le sérum vaccinal de substances solubles, douées de propriétés immunisantes.



Chacun de ces points devait être l'objet des travaux de nombreux auteurs; dans l'ordre de l'immunisation passive vis-à-vis de la vaccine, nous citerons les études de Janson, Kramer et Robert Boyce, Landmann, Beumer et Peipper, Hannover, Rembold, Hlava; leurs données ultérieurement furent confirmées par Zagari, Risel, Camus, Henseval et Convent, et plus récemment développées par Urbani, Okawachi, Bessho, Haendel, Gilde-meister et Schmitt. On doit en rapprocher les travaux de Duclert d'abord, de Borrel ensuite sur la clavelée, travaux qui devaient aboutir à la méthode de la séro-clavelisation. Au sujet de la sérothérapie vaccinale de variole, nous signalerons les recherches de Auché, Kin-youn, Landmann, Thomson et Marsch, Courmont et Montagnard, Wurtz et Huon, Urbani, Teissier et Ma-

rie, Gastinel. Mais nous insisterons surtout sur l'étude des caractères des matières immunisantes contenues dans le sérum vaccinal.



Ici encore, c'est Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard qui dans leur troisième mémoire de fin 1899, ont indiqué la voie. Sternberg, Kinyoun et Reed avaient indiqué le principe de cette étude. Mais c'est vraiment Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard, qui, selon l'expression de Sobernheim, de Berne, ont « mené la méthode jusqu'à pleine appréciation ».

Ils mélangèrent *in vitro* sérum et virus vaccinal et apprécièrent la virulence du mélange sur la génisse. Ainsi reconnurent-ils l'effet neutralisant sur le virus vaccinal, non seulement du sérum de génisses vaccinées, mais encore du sérum de chevaux vaccinés, de sujets humains vaccinés, de sujets guéris de la variole. Une fois prouvée l'existence des substances virulicides dans le sérum vaccinal, ils essayèrent d'en préciser les conditions d'apparition et de disparition selon le mode d'inoculation du virus, d'en définir les caractères physiques, d'en préciser le substratum qui paraît être la globuline du sérum.



Ce troisième mémoire, comme les précédents, inspira de nombreuses recherches. Certains auteurs s'attachèrent à découvrir, dans le sérum vaccinal, à côté des subs-

tances virulicides, d'autres anticorps; nous citerons les études sur les anticorps déviant le complément (Gastinel), sur les précipitines, les agglutinines. Mais nous indiquerons surtout les travaux portant sur le pouvoir virulicide, ou mieux « anti-vaccin » du sérum vaccinal.

*
**

La survenue constante des anticorps après vaccination fut confirmée par Martins, Freyer, Paschen, Süpfle, von Prowasek, Casagrandi, Gastinel, Gins, Sato, Coplan. — Frankenstein, Progelski étudièrent les anticorps virulicides chez l'homme. Le rôle de la virulence de la lymphé, en rapport avec l'apparition des corps virulicides, fut discuté (Calmette et Guérin, Wurtz et Camus, Henseval et Convent, Groth, Gins, Sobernheim, Bessho), comme aussi le rôle de la répétition des inoculations de lymphé (Kando, Læwen-thal). Schneider, Okawachi insistèrent sur la dépendance existant entre la gravité de la maladie et la richesse du sérum en anticorps, tandis que Camus, Kurocha comparèrent les différents modes d'inoculations vis-à-vis de l'apparition du pouvoir virulicide du sérum. Différentes méthodes pour la constatation des anticorps virulicides furent proposées par Gins, Sato, Fujii, Paschen, Haendel, Gildemeister, Schmitt et Ledingham, Garthler. Les rapports entre l'immunité et les anticorps virulicides furent l'objet de multiples travaux, entrepris par Masuda, par Camus (qui, par saignées répétées, essaya de retirer l'immunité à des lapins vaccinés — par

transfusions répétées, de conférer l'immunité à des lapins neufs), par Gildemeister et Herzberg, par Levaditi et Nicolau, par Zuruckzoglu, qui étudièrent l'immunité dans l'herpès et dans de la vaccine. La recherche des anticorps virulicides chez le lapin après inoculation intraveineuse d'un mélange sérum-vaccin fut pratiquée par Camus, par Sato. Le rôle des différents organes (Von Prowasek, Schneider, Gastinel, Levaditi et Nicolau), le rôle du système réticulo-endothélial (Walthard, Zuruckzoglu, Goldmann et Joffe) furent successivement discutés dans la formation des anticorps virulicides.

Le dernier travail sur la question, parvenu à notre connaissance, est celui de Mlle Ber, inspiré par Camus et Henri Bénard : « *Quelques recherches sur le pouvoir antivirulent au cours de la vaccine expérimentale chez le lapin* » (1932).

Mais nous savons que des recherches sont encore en cours actuellement — et nous remercions MM. Césari et Boquet d'avoir bien voulu nous communiquer leur étude encore inédite sur le sérum-antivaccin de cheval.



FASQUELLE

Expérience de Béclère, Chambon et Saint-Yves Ménard

A gauche ; inoculation de vaccin

A droite ; inoculation de mélange vaccin-sérum

Technique pour l'appréciation du pouvoir anti-vaccin d'un Sérum

Pour apprécier le pouvoir virulicide d'un sérum, il faut :

1. Avoir un vaccin-étalon, de virulence connue, sur lequel on fera agir le sérum.

2. Assurer dans les meilleures conditions le mélange vaccin-sérum à une température précise, pendant un temps donné, en proportions variables, de façon qu'on puisse comparer l'action sur le vaccin du sérum à des taux de dilution divers.

3. Disposer d'un animal-réactif, réceptif au vaccin.

4. Procéder à l'inoculation à l'animal des échantillons à divers taux du mélange vaccin-sérum, en ayant toujours soin de pratiquer une inoculation témoin de vaccin, qui mettra à l'abri des erreurs provenant des degrés divers de réceptivité individuelle de l'animal.

5. Lire le résultat des inoculations, au bout d'un temps connu.

6. Traduire ce résultat en un langage aussi clair que possible pour faciliter la comparaison des résultats obtenus dans des expériences différentes, par des auteurs divers.



Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard procédaient ainsi :

— ils remplissaient une éprouvette de 5 à 6 cc. de sérum;

— ils y ajoutaient 20 à 30 centigrammes de vaccin frais;

— ils agitaient le mélange;

— ils laissaient les éprouvettes bouchées, allongées horizontalement, au repos pendant vingt-quatre heures, à la température du laboratoire;

— ils agitaient le mélange, qu'ils laissaient ensuite à nouveau vingt-quatre heures au repos, à la même température;

— ils décantaient par aspiration, avec une pipette; ce qu'ils utilisaient, c'était le mélange vaccin-sérum, reposant au fond de l'éprouvette;

— ils inoculaient alors à la génisse, sur les deux régions symétriquement placées de chaque côté du raphé médian périnéal, d'un côté un mélange vaccin-sérum neuf, de l'autre un mélange vaccin-sérum de génisse vaccinée; — sur le flanc un vaccin-témoin. Leurs ino-

culations étaient faites par scarifications linéaires de 3 à 4 cm.;

— ils comparaient six jours plus tard les résultats des inoculations.

Ainsi Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard

— utilisaient comme vaccin étalon un vaccin fraîchement récolté;

— leurs mélanges vaccin-sérum n'étaient pas faits en proportions définies; la température était celle du laboratoire, le temps de contact de quarante-huit heures;

— l'animal-réactif était la génisse;

— les inoculations consistaient en scarifications linéaires nombreuses;

— ils lisaient le résultat le sixième jour;

— ils considéraient comme neutralisé un mélange ne donnant pas de vésicules ou seulement quelques vésicules, tandis que les témoins donnaient des vésicules vaccinales typiques.

Au sujet de cette technique, nous nous permettrons de faire trois remarques :

La première sur le vaccin étalon : ce vaccin étalon était différent à chaque expérience; en effet, il était nécessaire d'avoir recours à un vaccin actif; et à cette époque, ne disposant pas de frigorifiques, ils étaient obligés chaque fois d'avoir recours à un vaccin fraîchement récolté. C'est dire l'importance de l'inoculation témoin de vaccin seul, qui non seulement permettait de juger du degré de réceptivité individuelle de l'animal, mais aussi du degré de virulence du vaccin utilisé.

La deuxième remarque sur le mélange : le mélange vaccin-sérum n'était pas fait en proportions définies ; et ceci s'expliquait parfaitement, puisque ce qu'ils désiraient, c'était démontrer que le sérum de génisses vaccinées était doué d'un pouvoir virulicide, et non mesurer le pouvoir virulicide de ce sérum.

Enfin, la troisième remarque porte sur la lecture des résultats ; afin de se mettre à l'abri des erreurs pouvant provenir de la façon même dont étaient pratiquées les inoculations ou d'une variation de réceptivité d'un point à l'autre du tégument, ils avaient soin de faire au minimum une quinzaine d'inoculations et interprétaient le résultat ainsi non sur une seule inoculation, mais sur le total des inoculations pratiquées.



Etant donné les multiples expériences entreprises par de très nombreux auteurs sur le pouvoir virulicide du sérum vaccinal, nous ne pouvons rapporter successivement la technique utilisée par chacun d'entre eux. Aussi, reprendrons-nous une par une les conditions que nous avons définies en tête de ce chapitre, et à propos de chacune nous insisterons sur les points qui nous paraissent essentiels, d'après les constatations faites par les divers expérimentateurs.

1. *Le Vaccin-étalon*

Toutes les recherches entreprises à l'époque où la conservation par le froid du vaccin n'était pas utilisée, ont été évidemment faites avec un vaccin-étalon nouveau à chaque expérience. Mais depuis que les frigorifiques sont employés de manière courante, nombreux sont encore les auteurs qui ont eu recours à des vaccins différents dans leurs différentes expériences. C'est, croyons-nous, une cause d'erreur, car la virulence d'un vaccin par rapport à un autre peut varier dans des limites importantes.

2. *Le Mélange Vaccin-sérum*

Beaucoup d'auteurs avaient pour but de constater l'existence d'un pouvoir virulicide; aussi le plus souvent ont-ils utilisé des doses respectives de vaccin et de sérum, telles que le sérum était en proportion sûrement suffisante pour neutraliser le vaccin; ainsi Gastinel mettait en contact le vaccin avec un sérum en proportion 500 fois plus fortes. Ces expériences ont donné des résultats de très grosse valeur, eu égard au but dans lequel elles étaient entreprises : il s'agissait de constater, non de doser le pouvoir virulicide.

Les auteurs qui, au contraire, ont cherché à apprécier le degré d'activité du sérum virulicide ont employé des procédés très divers : les uns ont fait varier les doses respectives de sérum et de vaccin (Mlle Ber) ; d'autres ont essayé d'abord de définir la dose minima

de vaccin efficace; et c'est sur cette dose de vaccin très dilué qu'ils ont fait agir le sérum; d'autres à l'opposé ont opéré sur des échantillons de vaccin et de sérum en fortes concentrations. Il nous semble préférable, d'une part de ne faire varier qu'un des deux facteurs du mélange — ce qui rend la comparaison des résultats plus facile —, d'autre part de se tenir à l'abri des erreurs pouvant résulter soit d'une concentration trop forte, soit d'une dilution trop poussée, en opérant sur des dilutions moyennes; le taux de 1/1.000 paraît une bonne dilution pour le vaccin.

Quant au temps et à la température de contact du mélange, ces deux points — qui n'ont pas été précisés par tous les expérimentateurs d'ailleurs, — semblent varier entre quarante-huit heures et une heure pour le temps, entre $+ 15^{\circ}$ et $+ 38^{\circ}$ pour la température.

3. *L'Animal-réactif*

La génisse a d'abord été regardée comme l'animal de choix; l'âne aussi a été utilisé; chez la génisse comme l'âne, on inoculait le vaccin sur la peau.

Le lapin est maintenant considéré, semble-t-il avec juste raison, comme l'animal le plus commode pour l'étude de la virulence du vaccin — et par suite du pouvoir antivaccin du sérum.

Mais chez le lapin, en dehors de la peau, la cornée aussi a été utilisée comme terrain d'inoculation.

Quant au cobaye, à la souris, les résultats qu'ils ont donnés paraissent peu encourageants, au moins pour l'étude du pouvoir antivaccin du sérum.

4. *Le Mode d'Inoculation*

Le procédé d'inoculation est peut-être le point le plus discuté; en tous cas, il mérite une discussion complète.

Le procédé le plus simple, c'est la *scarification cutanée*, scarification linéaire plus ou moins longue; on enduit d'abord la vaccinostyle de vaccin; à travers ce vaccin, on fait la scarification. C'est le procédé utilisé par Béchere et ses collaborateurs chez la génisse; il est aussi facilement réalisable chez le lapin.

Le principal inconvénient qu'on puisse lui reprocher est qu'on ignore toujours la dose de vaccin ou de mélange utilisée; on peut mesurer la quantité que l'on dépose sur la vaccinostyle; on ignore, de cette quantité, ce qui participe à l'inoculation et ce qui sèche, inutilisé, sur la peau voisine.

Un autre inconvénient, c'est que la scarification porte sur un point précis du tégument; s'il existe des modifications, fussent-elles légères, de réceptivité suivant les points du tégument, elles peuvent être causes d'erreur.

Un troisième inconvénient, c'est que la scarification peut être plus ou moins profonde, et donne par suite des résultats différents, sans que l'expérimentateur puisse s'en rendre compte.

Ces trois inconvénients sont en partie évités, si, au lieu de faire une seule scarification, on en fait plusieurs (15 à 20, selon Béchere et ses collaborateurs) et on ne juge du résultat que d'après le résultat du total des scarifications pratiquées.

Un autre procédé, c'est *l'injection intradermique*; ici la dose injectée est précise; mais on n'est pas plus à l'abri des variations de réceptivité locale; la multiplication des injections, ici encore, peut pallier à cet inconvénient.

Le meilleur procédé de beaucoup paraît être le procédé de Calmette et Guérin modifié par L. Camus et A. Fasquelle : *grattage superficiel* avec une pipette, de la peau rasée du lapin, sur des surfaces de superficie facilement mesurables, une quantité déterminée de vaccin ou de mélange étant préalablement déposée sur la surface à inoculer.

L'injection sous-cutanée ne peut donner aucun renseignement facile à interpréter, en général, — et rares sont les auteurs qui l'ont utilisée.

Nous citerons également la scarification des muqueuses, peu employée.

En dehors de l'inoculation cutanée, l'inoculation cornéenne, chez le lapin, a été utilisée par de nombreux auteurs; le procédé se rapproche de celui de la scarification cutanée; comme lui, il a l'inconvénient de ne pas tenir compte de la dose exacte de vaccin ou de mélange utilisée.

5. Lecture des Résultats

Elle dépend, avant tout, du procédé d'inoculation.

Une scarification cutanée, une injection intradermique peut être positive : belle pustule vaccinale, — ou négative : simple cicatrice. Mais toute la gamme des résultats intermédiaires est bien difficile à interpréter.

Certains auteurs ont jugé, à la suite des résultats obtenus par Borrel dans la clavelée, chez les brebis, par la dimension de la pustule : le moins qu'on en puisse dire est que l'interprétation paraît fort délicate.

Il n'en est plus du tout de même dans les résultats du grattage superficiel d'une surface définie des téguments, selon le procédé de Calmette et Guérin; on peut alors constater ou une éruption confluyente, ou une éruption cohérente (pustules visibles, mais en trop grand nombre pour être comptées), ou une éruption de pustules, séparées d'intervalles de peau saine, et par suite facilement dénombrables.

Le kératite déterminée par la scarification cornéenne? elle existe ou n'existe pas; l'appréciation des divers degrés de kératite est fort sujette à caution, macroscopiquement; la constatation au microscope de corps de Guarniéri ne paraît pas faciliter une appréciation quantitative de l'activité d'un vaccin ou d'un mélange vaccin-sérum.

Quant à l'appréciation de virulence d'un vaccin par le pourcentage de morts déterminées par l'injection intra-cérébrale à un nombre défini de souris, elle ne paraît pas applicable aux mélanges vaccin-sérum, car la seule injection intra-cérébrale de sérum (de génisse, par exemple) à la souris détermine souvent la mort.

6. Comparaison des Résultats des diverses Expériences

Cette comparaison s'avère extrêmement difficile; elle semble ne pas avoir été tentée; les auteurs se con-

tendent de la constatation qualitative : « ce sérum a un pouvoir virulicide », et se désintéressent de la notion quantitative : « ce sérum a un pouvoir antivaccin double ou triple de cet autre sérum ».



Tenant compte autant que possible de ces remarques, nous avons utilisé la technique suivante :

1. *Vaccin-étalon*

Dans toutes nos expériences, nous avons utilisé le même vaccin, vaccin n° 1.250, préparé à l'Institut supérieur de Vaccine de l'Académie de Médecine.

Ce vaccin avait été préparé en diluant une partie de pulpe vaccinale brute, récoltée chez la génisse, dans 4, 5 parties de glycérine. Le broyage minutieux de la pulpe en avait fait un vaccin parfaitement homogène, sans grumeaux, sans particules solides, susceptibles de troubler les mélanges du vaccin et du sérum.

Ce vaccin, essayé selon la technique de Calmette et Guérin, sur la peau d'un lapin témoin, donnait :

- au 1/100, une éruption confluyente avec gros épaissement de la peau;
- au 1/1.000, une éruption confluyente;
- au 1/10.000, une éruption de très nombreuses pustules, impossibles à dénombrer : éruption cohérente.

Inoculé sur la cornée, à la dilution au 1/1.000, il déterminait en soixante-douze heures une kératite, caractérisée macroscopiquement par une opacité étendue de la cornée, microscopiquement, sur les coupes, par la présence de multiples corps de Guarniéri.

Ce vaccin étant conservé à la glacière à — 15°, nous l'avions réparti en tubes; nous ne sortions de la glacière que le nombre de tubes dont nous avions besoin. Durant toutes nos expériences, le vaccin a conservé la même virulence, ainsi que nous avons pu nous en rendre compte par les inoculations-témoins que nous avons pratiquées.

2. Les mélanges vaccin-sérum

Nous avons toujours réalisé nos mélanges dans la proportion :

$\frac{1}{2}$ cc. de vaccin au $\frac{1}{500}$ + $\frac{1}{2}$ cc. de dilution
du sérum à étudier.

Les dilutions du sérum étaient faites dans de l'eau physiologique, à des taux en progression géométrique :

$$\frac{1}{1} \quad \frac{1}{2} \quad \frac{1}{4} \quad \frac{1}{8} \quad \frac{1}{16} \quad \frac{1}{32} \quad \frac{1}{64} \quad \frac{1}{128} \quad \frac{1}{256}$$

Les concentrations finales, de vaccin et de sérum dans le mélange, étaient donc de :

Vaccin au	$\frac{1}{1.000}$									
Sérum au	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{256}$	$\frac{1}{512}$	

Dans tous les résultats, nous ne tiendrons compte que de ces concentrations finales, que nous écrivons :

$\frac{V}{1.000}$	et	$\frac{S}{2}$	$\frac{S}{4}$	$\frac{S}{8}$	etc...
-------------------	----	---------------	---------------	---------------	--------

Le temps de contact du vaccin et du sérum a toujours été de une heure entre la préparation du mélange et l'inoculation.

La température à laquelle était maintenu une heure le mélange a toujours été de — 4°.

En effet, nos premières recherches ont porté sur cette température à laquelle devait être maintenu le mélange.

Suivant la technique de Mlle Ber, nous avons d'abord maintenu les mélanges à 37°, à l'étuve.

Puis nous avons mis les mélanges à la température du laboratoire.

Enfin, nous les avons placés à la glacière à — 4°.

Nos résultats ont toujours été les mêmes.

Pensant qu'il valait mieux ne pas risquer d'atténuer la virulence de notre vaccin-étalon par séjour à 37° ou à 20°, nous avons donc adopté le séjour à la glacière à — 4°.

3. *L'animal-réactif*

Nous avons utilisé le lapin; lapins de 2 kilos au moins, en bonne santé, ne présentant pas de naevus sur la peau.

4. *Le procédé d'inoculation*

Nous avons employé le procédé de Calmette et Guérin, modifié par L. Camus et A. Fasquelle, c'est-à-dire :

que nous rasons le dos du lapin, largement;

qu'à l'aide d'un crayon dermatographique, nous limitons 6 plages de 20 cc² chacune (4 sur 5), séparées les unes des autres par une surface d'au moins 1 cm. de large, afin d'éviter qu'une plage inoculée ne souille la voisine;

sur chaque plage, nous disposons 3/10 de cc. du mélange à inoculer;

avec une simple pipette, nous exerçons un grattage superficiel, d'abord horizontalement, puis verticalement, enfin obliquement, jusqu'à l'apparition d'un érythème sur la plage entière,

Nous avons toujours soin de réserver une des 6 plages pour inoculation témoin de 3/10 de cc. du V/1.000.

5. *Lecture des résultats*

Nous lisons le résultat le cinquième ou mieux le sixième jour après l'inoculation. Pour que l'expé-

rience soit considérée comme valable, il faut que la plage inoculée de vaccin témoin au 1/1.000 donne une éruption confluyente; sinon, la réceptivité diminuée du lapin à la vaccine doit faire considérer la valeur de l'expérience comme nulle.

Les résultats des inoculations des autres plages par le mélange vaccin-sérum seront interprétés par rapport à cette plage témoin. On peut constater :

ou une éruption confluyente : le pouvoir antivaccin du sérum est nul;

ou quelques pustules seulement (moins de 10 ; le sérum neutralise le vaccin).

Nous ne cherchons pas à obtenir la disparition complète des pustules sur une plage, mais seulement une diminution de celles-ci, telle qu'elle soit considérable par rapport à la plage de référence. En effet, si, sur une dose connue de vaccin, on fait agir des doses progressivement croissantes de sérum, on constate à un certain moment une diminution massive des pustules; si on continue par contre à augmenter la dose de sérum, il faut des quantités considérables de celui-ci pour que la disparition des pustules soit complète.

Entre ces deux résultats, éruption confluyente ou diminution considérable du nombre de pustules (moins de 10), la gamme des résultats intermédiaires se traduit par un nombre de pustules de plus en plus grand jusqu'à l'éruption cohérente (pustules reconnaissables, mais non dénombrables).

Nous nous proposons de caractériser un sérum par deux résultats, et de dire par exemple :

Le sérum X est tel que :

$$\frac{S}{64} \quad \text{neutralise complètement} \quad \frac{V}{1.000}$$

$$\frac{S}{256} \quad \text{ne neutralise pas complètement} \quad \frac{V}{1.000}$$

6. Traduction des résultats
en un langage aussi clair que possible

Ceci est commode pour permettre de comparer les résultats de nombreuses expériences, surtout si ils proviennent d'auteurs différents.

Plusieurs procédés sont utilisables :

a) On peut rapporter ces résultats à un volume égal de sérum pur non dilué et de vaccin au 1/1.000.

Si :

$$\frac{S}{64} \quad \text{neutralise} \quad \frac{V}{1.000}$$

et $\frac{S}{256} \quad \text{neutralise incomplètement} \quad \frac{V}{1.000}$

On dira :

$$S \text{ neutralise } 64 \text{ fois son volume de } \frac{V}{1.000}$$

$$S \text{ neutralise incomplètement } 256 \text{ fois son volume de } \frac{V}{1.000}$$

Cette notation a l'avantage de tenir compte des conditions d'expérience.

b) Aurait-on le droit, par le calcul, de rapporter les résultats à l'unité de volume de sérum pur ou de vaccin pur?

Rien ne dit que les concentrations respectives du vaccin et du sérum augmentant de pair, ces résultats seraient les mêmes.

Nous avons fait quelques expériences en ce sens; par exemple nous avons inoculé un lapin sur 4 plages de 20 cc.² chacune.

$$1^{\text{re}} \text{ plage : } \frac{V}{1.000}$$

$$2^{\text{e}} \text{ plage : } \frac{V}{1.000} + \frac{S}{64}$$

$$3^{\text{e}} \text{ plage : } \frac{V}{100}$$

$$4^{\text{e}} \text{ plage : } \frac{V}{100} + \frac{S}{6}$$

Au sixième jour, nous constatons :

première plage : éruption confluenta;

troisième plage : éruption confluenta, avec gros épaississement;

deuxième plage : 2 pustules;

quatrième plage : 4 pustules.

Les résultats ne paraissent donc pas très différents si les concentrations sont respectivement multipliées par 10.

On aurait peut-être alors le droit de traduire le résultat :

$$\begin{array}{ccc} \frac{S}{64} & \text{neutralise} & \frac{V}{1.000} \\ \text{et } \frac{S}{256} & \text{neutralise incomplètement} & \frac{V}{1.000} \end{array}$$

par :

$$\begin{array}{l} \frac{1.000 S}{64} \text{ c'est-à-dire : } 15,6 S \text{ neutralise } V \\ \text{et } \frac{1.000 S}{256} \text{ c'est-à-dire : } 3,8 S \text{ neutralise incom-} \\ \text{plètement } V \end{array}$$

Cette notation, rapportant les résultats à l'unité de vaccin et de sérum, permet de comparer facilement — nous le verrons — les résultats donnés par différents auteurs; elle a l'inconvénient de s'éloigner des conditions d'expérience.

***Le pouvoir anti-vaccin du Sérum
après vaccination
dans les diverses espèces animales
et chez l'Homme***

La vaccination détermine dans le sérum des animaux, comme dans celui de l'homme, l'apparition du pouvoir anti-vaccin.

Nous étudierons en premier lieu le pouvoir anti-vaccin du sérum chez les animaux vaccinés.

CHEZ LES BOVINS

Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard ont démontré que le sérum de génisses vaccinées ne possède pas en général un pouvoir anti-vaccin avant le huitième ou neuvième jour; c'est du neuvième jour au treizième jour que le pouvoir virulicide apparaît. De nombreux auteurs ont confirmé ultérieurement ces résultats. D'après ces expérimentateurs, le pouvoir anti-vaccin atteindrait son maximum en deux à quatre semaines.

Béclere et ses collaborateurs ont encore constaté son existence au bout d'un an. C'est vers le vingt-septième, le trentième mois que le pouvoir anti-vaccin diminuerait.

Nous avons eu l'occasion de faire quelques expériences chez la génisse.

Une génisse est vaccinée le 28 mai 1936 sur les flancs. Le 2 juin, l'éruption vaccinale est intense; on récolte une pulpe vaccinale donnant au 1/1.000.000 une éruption cohérente chez le lapin. Le même jour, une saignée est pratiquée.

Le 13 mai, une grande saignée de 5 litres est pratiquée.

Le 18 mai, une nouvelle grande saignée de 5 litres est pratiquée à nouveau.

Nous avons, suivant la technique précisée au chapitre précédent, apprécié le pouvoir anti-vaccin de ces trois sérums.

Le sérum du cinquième jour, inoculé au lapin, donne les résultats suivants :

1 ^{re} plage :	$\frac{V}{1.000}$	étalon :	éruption confluyente.
2 ^e plage :	$\frac{S}{32}$	sur $\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
3 ^e plage :	$\frac{S}{64}$	sur $\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
4 ^e plage :	$\frac{S}{128}$	sur $\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
5 ^e plage :	$\frac{S}{256}$	sur $\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.

6^e plage : $\frac{S}{512}$ sur $\frac{V}{1.000}$ éruption confluyente.

Donc : au cinquième jour, aucun pouvoir anti-vaccin du sérum.

Le sérum du quinzième jour a donné :

$\frac{V}{1.000}$ étalon : éruption confluyente.

$\frac{S}{32}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 2 à 3 pustules.

$\frac{S}{64}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 2 à 3 pustules.

$\frac{S}{128}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 2 à 3 pustules.

$\frac{S}{256}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 20 pustules.

$\frac{S}{512}$ sur $\frac{V}{1.000}$ éruption confluyente

Donc : le sérum du quinzième jour a un pouvoir anti-vaccin tel que :

$\frac{S}{128}$ neutralise $\frac{V}{1.000}$

$\frac{S}{256}$ neutralise incomplètement $\frac{V}{1.000}$

Le sérum du vingtième jour a donné :

V étalon : éruption confluyente.		
<u>1.000</u>		
<u>S</u>	sur	<u>V</u>
32		1.000
		2 pustules.
<u>S</u>	sur	<u>V</u>
64		1.000
		2 pustules.
<u>S</u>	sur	<u>V</u>
128		1.000
		15 pustules.
<u>S</u>	sur	<u>V</u>
256		1.000
		éruption cohérente.
<u>S</u>	sur	<u>V</u>
512		1.000
		éruption confluyente.

Donc : le sérum du vingtième jour a un pouvoir anti-vaccin tel que :

<u>S</u>	neuralise	<u>V</u>
64		1.000
<u>S</u>	neutralise incomplètement	<u>V</u>
128		1.000

Le sérum du vingtième jour paraît moins actif que le sérum du quinzième jour; mais la génisse, à la suite de la première saignée de 5 litres, avait pendant trois jours absorbé des quantités d'eau considérables. Il est possible que cette diminution relative de l'activité du

sérum soit due en partie à la dilution du sérum qui en est résultée.

Nous n'avons pas, chez les bovins, étudié le pouvoir anti-vaccin du sérum à des dates dépassant un mois après la vaccination.

CHEZ LES LAPINS

Mlle Ber a trouvé que le pouvoir anti-vaccin du sérum apparaît vers le douzième jour après la vaccination; il prend naissance d'une façon brusque; son taux est tel que 1 goutte de sérum dilué au 1/10 neutralise 5 gouttes de vaccin au 1/1.000, tandis que 1 goutte au 1/50 mélangée à 5 gouttes de vaccin au 1/1.000 ne donne qu'une neutralisation incomplète.

Sato aurait trouvé ce pouvoir persistant encore au dixième mois.

Nous avons confirmé ces expériences à multiples reprises.

Par exemple :

Un lapin est vacciné le 1^{er} juin 1935; il est saigné les 5 et 10 juin; puis le 12 juin, le 15 juin, le 1^{er} juillet.

Ces divers sérums sont appréciés au point de vue de leur pouvoir anti-vaccin.

Le sérum du cinquième jour et du dixième jour donnent les mêmes résultats :

1^{re} plage : $\frac{V}{1.000}$ étalon : confluent.

2 ^e plage :	$\frac{S}{32}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluenta.
3 ^e plage :	$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluenta.
4 ^e plage :	$\frac{S}{128}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluenta.
5 ^e plage :	$\frac{S}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluenta.
6 ^e plage :	$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluenta.

Donc : aucun pouvoir anti-vaccin.

Au contraire, les sérums des douzième, quinzième et trente-et-unième jours donnent :

	$\frac{V}{1.000}$	étalon :	confluent.
	$\frac{S}{32}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{128}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{32}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{128}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$
	$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$

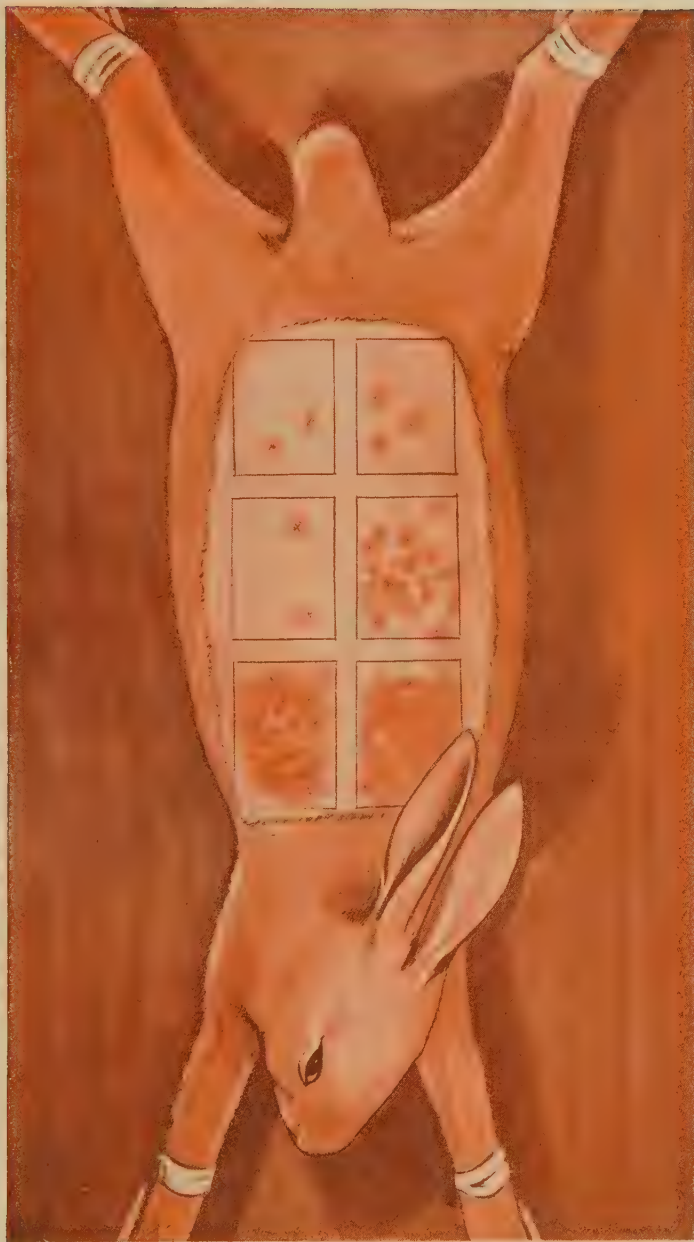
3 pustules.

1 pustule.

2 pustules.

30 pustules.

confluent.



FASQUELLE

Expérience personnelle

Six plages d'inoculation : pustules d'autant moins nombreuses que le mélange vaccin-sérum est plus riche en sérum

Donc : les sérums des douzième, quinzième, trente-et-unième jours sont analogues et tels que :

$$\frac{S}{64} \text{ neutralise } \frac{V}{1.000}$$

$$\frac{S}{128} \text{ neutralise } \frac{V}{1.000}$$

$$\frac{S}{256} \text{ neutralise incomplètement } \frac{V}{1.000}$$

Ces chiffres sont intéressants à rapprocher de ceux trouvés par Mlle Ber.

Pour faire cette comparaison, nous avons traduit les résultats de Mlle Ber, selon les deux méthodes indiquées dans notre chapitre : Technique.

Première méthode. — On rapporte à l'unité de sérum et au $V/1.000$.

Mlle Ber dit :

$$1 \text{ goutte de } \frac{S}{10} \text{ neutralise } 5 \text{ gouttes } \frac{V}{1.000}$$

$$1 \text{ goutte de } \frac{S}{50} \text{ neutralise incomplètement } 5$$

$$\text{gouttes } \frac{V}{1.000}$$

On peut traduire :

$$\frac{1 \text{ S}}{10} \text{ neutralise } \frac{5 \text{ V}}{1.000} \text{ ou :}$$

$$1 \text{ S neutralise } 50 \frac{\text{V}}{1.000}$$

$$\frac{1 \text{ S}}{50} \text{ neutralise incomplètement } \frac{5 \text{ V}}{1.000} \text{ ou :}$$

$$1 \text{ S neutralise incomplètement } 250 \frac{\text{V}}{1.000}$$

Nous disons :

$$\frac{\text{S}}{64} \text{ neutralise } \frac{\text{V}}{1.000}$$

$$\frac{\text{S}}{256} \text{ neutralise incomplètement } \frac{\text{V}}{1.000}$$

On peut traduire :

$$\frac{\text{S}}{64} \text{ neutralise } \frac{\text{V}}{1.000} \text{ par :}$$

$$1 \text{ S neutralise } 64 \frac{\text{V}}{1.000}$$

$$\frac{\text{S}}{256} \text{ neutralise incomplètement } \frac{\text{V}}{1.000} \text{ par}$$

$$1 \text{ S neutralise incomplètement } 256 \frac{\text{V}}{1.000}$$

Les chiffres sont d'une concordance très satisfaisante.

Mais notre méthode paraît plus précise puisque l'étude du sérum au 1/128 nous a permis de voir qu'il neutralisait V/1.000 c'est-à-dire que :

$$1 \text{ S neutralise } 128 \frac{V}{1.000}$$

Deuxième méthode. — On rapporte à l'unité de sérum et à l'unité de vaccin.

Le résultat de Mlle Ber :

$$\begin{array}{rcl} 1 \text{ S neutralise } & 5 \text{ V} & \\ \hline 10 & 1.000 & \\ \\ 1 \text{ S neutralise incomplètement } & 5 \text{ V} & \\ \hline 50 & 1.000 & \end{array}$$

se traduit par :

$$\frac{1 \times 1.000 \text{ S neutralise V ou } 20 \text{ S neutralise V.}}{10 \times 5}$$

$$\frac{1 \times 1.000 \text{ S-neutr. incomp. V ou } 4 \text{ S neutr. incomp. V.}}{50 \times 5}$$

Notre résultat :

$$\begin{array}{rcl} \text{S neutralise } & \text{V} & \\ \hline 64 & 1.000 & \\ \\ \text{S neutralise incomplètement } & \text{V} & \\ \hline 256 & 1.000 & \end{array}$$

se traduit par :

$$\frac{1.000 \text{ S neutralise V ou } 15,6 \text{ S neutralise V}}{64}$$

$$\frac{1.000 \text{ S neutralise incomplètement V ou :}}{256}$$

$$3,8 \text{ S neutralise incomplètement V}$$

Les chiffres sont concordants.

$$\text{Mais notre résultat supplémentaire } \frac{\text{S neutralise}}{128}$$

$$\frac{\text{V se traduit par } 1.000 \text{ S neutralise V ou } 7,81 \text{ S}}{1.000} \quad \frac{1.000 \text{ S neutralise V}}{128}$$

neutralise V.

Nous avons pu apprécier le pouvoir antivaccin du sérum chez le lapin six mois, ou douze mois après l'inoculation.

Le sérum du sixième mois est tel que,

$$\text{S neutralise } 128 \frac{\text{V}}{1.000}$$

$$\text{S neutralise incomplètement } 256 \frac{\text{V}}{1.000}$$

c'est-à-dire analogue au sérum des trente et unième jour et douzième jour.

Le sérum du douzième mois, par contre, donne :

<u>V</u> étalon. : Confluent.		
<u>1.000</u>		
<u>S</u> sur <u>V</u>		0 pustule.
32	1.000	
<u>S</u> sur <u>V</u>		20 pustules.
64	1.000	
<u>S</u> sur <u>V</u>		} confluent.
128	1.000	
<u>S</u> sur <u>V</u>		
256	1.000	
<u>S</u> sur <u>V</u>		}
512	1.000	

Donc le sérum du douzième mois est tel que :

$$S \text{ neutralise } 32 \frac{V}{1.000}$$

$$S \text{ neutralise incomplètement } 64 \frac{V}{1.000}$$

Il semble qu'à partir du douzième mois, chez le lapin, le pouvoir antivaccin du sérum s'atténue.

CHEZ LE CHEVAL

Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard ont trouvé que le pouvoir virulicide apparaît vers le quinzième jour; la plupart des auteurs sont d'accord pour dire qu'il persiste environ un an, mais disparaît plus rapidement que chez les bovins.

Nos recherches sur le sérum de cheval étant encore en cours, nous ne pouvons donner aucun résultat.

Nous remercions MM. Cesari et Boquet d'autre part d'avoir bien voulu nous donner plusieurs échantillons du sérum de leur cheval vacciné.

CHEZ L'ÂNE

Il semble que, comme chez le cheval, le pouvoir antivaccin ne dure pas plus d'un an.

CHEZ LE PORC

Béclere et ses collaborateurs ont trouvé que le pouvoir virulicide apparaissait plus précocement.

Ainsi donc, en résumé, chez tous les animaux, la vaccination fait apparaître un pouvoir antivaccin dans le sérum, au bout de quelques jours, pouvoir antivaccin qui persiste environ une année, mais disparaît assez rapidement ensuite, semble-t-il, compte tenu des variations selon les espèces.

CHEZ L'HOMME

Etudions maintenant le pouvoir antivaccin du sérum chez l'homme, après vaccination.

Gastinel a montré qu'il apparaissait vers le dixième-douzième jour.

Béclere et ses collaborateurs avaient insisté sur la possibilité d'une très longue persistance de ce pouvoir, plus de cinquante ans après la vaccination dans certains cas.

De nombreux auteurs en outre ont trouvé que le pouvoir antivaccin du sérum chez l'homme, après vaccination, était beaucoup plus faible que chez les animaux.

Nos études à ce sujet sont encore en trop petit nombre pour que nous nous permettions d'en tirer des conclusions.

Nous ne citerons que deux observations :

M. AB... Lucien, quarante-deux ans. N'aurait pas été revacciné depuis la guerre. Le 10 mai 1936, vaccination par 2 scarifications doubles au bras gauche. Evolution de 2 pustules vaccinales typiques. Le 9 juin, prise de sang.

L'étude du sérum sur le lapin donne :

V étalon : Confluent.

1.000

S sur V 2 pustules.

4 1.000

$$\frac{S}{16} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 30 \text{ pustules.}$$

$$\frac{S}{64} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad \text{cohérent.}$$

$$\left. \begin{array}{l} \frac{S}{256} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \\ \frac{S}{512} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \end{array} \right\} \text{ confluent.}$$

Donc, ce sérum est tel que :

$$S \text{ neutralise complètement } 4 \frac{V}{1.000}$$

$$S \text{ neutralise incomplètement } 16 \frac{V}{1.000}$$

Nota : il est regrettable qu'une prise de sang n'ait pas été pratiquée avant la vaccination.

Mme Comb..., Marie, 54 ans. N'aurait pas été vaccinée depuis son enfance. Le 2 juillet 1936, prise de sang. Vaccination. 2 pustules typiques. Nous n'avons pas revu, comme nous le désirions, Mme Comb... un mois plus tard.

$$\frac{V}{1.000} \text{ étalon : Confluent.}$$



FRANCOISE

Expérience personnelle

$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	} érup. confl.
$\frac{S}{16}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{S}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	

Donc ce sérum était dépourvu de pouvoir antivaccin.

Nous ne tirerons aucune conclusion.

Nous rapportant aux constatations de très nombreux auteurs, nous nous contenterons de noter l'opposition curieuse entre le faible pouvoir virulicide de l'homme vacciné (inoculation par 2 scarifications, donnant 2 pustules), et le fort pouvoir virulicide des animaux vaccinés (larges inoculations, donnant de nombreuses pustules).

***Le pouvoir anti-vaccin du Sérum
après variolisation
chez quelques Animaux
et après Variole chez l'Homme***

La question est importante; mais nous ne pouvons pour le moment y apporter de contribution personnelle. Nous nous en excusons; mais nous n'avons pu jusqu'ici nous procurer de virus variolique; et c'est tout à fait par hasard que nous avons pu faire une prise de sang à un sujet qui avait présenté une variole au Maroc il y a quinze ans. Nous espérons pouvoir reprendre ultérieurement ces recherches, grâce au concours de médecins coloniaux, qui ont bien voulu nous promettre de nous adresser virus et sérums varioliques.

Nous nous contenterons donc de rappeler les constatations faites antérieurement.

VARIOLISATION DES ANIMAUX ET ÉTUDE DE LEUR SÉRUM

Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard avaient tenté d'inoculer la peau de génisses, de chevaux, de porcs avec du virus variolique; ils n'y réussirent jamais.

Chez le singe, par contre, ils réussirent, par inoculation cutanée de virus variolique, à déterminer l'apparition de pustules. Le sérum de ces singes, prélevé quatorze jours après l'inoculation, quelques heures avant la mort, était doué d'un puissant pouvoir virulicide.

Par injection intra-veineuse de virus variolique au cheval, ils obtinrent de même un sérum fortement virulicide.

Les auteurs allemands, qui, réussissant à transmettre la variole aux animaux, affirment l'identité des virus vaccinal et variolique, rapportent que le sérum de ces animaux est puissamment virulicide.

VARIOLE HUMAINE ET SÉRUM VARIOLIQUE

Chez les varioleux, Béclere et ses collaborateurs ont constaté l'existence d'un léger pouvoir virulicide du quatrième au sixième jour de l'éruption; aux vingt et unième, vingt-septième jour, le sérum était fortement antivirulent; chez trois hommes guéris de variole, et non revaccinés, ils constatèrent l'existence d'un faible pouvoir virulicide vingt-six, trente-huit et cinquante ans plus tard.

Gastinel pense que le pouvoir virulicide apparaît plus tôt que ne l'indiquait Beclere.

Schneider, Okawachi auraient dans de nombreux cas signalé un rapport entre la gravité de la maladie et l'importance de l'effet virulicide du sérum.

Voici notre unique observation;

M. Abd-el-L..., trente-huit ans. Aspect grêlé de la face. Aurait eu la variole au Maroc à vingt-trois ans. N'aurait pas été vacciné depuis. Prise de sang. Deux scarifications au bras gauche : très faible réaction érythémateuse. Pas de pustules. N'a pu être revu ensuite.

L'étude du sérum sur le lapin a donné :

V étalon : éruption confluyente.			
$\frac{S}{1.000}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	} 2 à 4 pustules.
$\frac{S}{16}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{S}{32}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	23 pustules.
$\frac{S}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	} éruption confl.
$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	

Conclusion : le sérum étant tel que :

$$\text{S neutralisait } 32 \frac{\text{V}}{1.000}$$

$$\text{S neutralisait incomplètement } 64 \frac{\text{V}}{1.000}$$

Au sujet du sérum variolique, nous ferons simplement la remarque qu'il est curieux de noter que le sérum de sujets atteints de variole (pustules sur tout le corps) est fortement virulicide, tandis que le sérum de sujets vaccinés (2 pustules) n'est que faiblement virulicide.

Influence

du mode d'inoculation du Vaccin

sur le pouvoir anti-vaccin du Sérum

Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard rapportent que « Quelle que soit la voie d'introduction du virus vaccinal dans l'organisme, qu'il s'agisse d'inoculations sous-épidermiques, sous-cutanées, intra-veineuses, le sérum devient antivirulent, et il ne le devient jamais qu'après plusieurs jours d'inoculation ».

Gastinel, chez le lapin, à la suite d'inoculations sous-cutanées, intra-veineuses, trouve un pouvoir anti-vaccin analogue à celui constaté après inoculations cutanées; en injections intra-gastriques, intra-péritonéales, il note un retard de l'apparition du pouvoir virulicide; il insiste sur le rapport existant entre la dose injectée de vaccin et l'importance du pouvoir anti-vaccin.

Camus apporte une double contribution à ce problème, d'abord par ses recherches sur l'introduction intraveineuse de vaccin et la vaccine généralisée, ensuite par les inoculations cornéennes.

Nous avons repris l'étude de ce problème; dans nos recherches, nous avons eu recours à l'introduction par diverses voies de la même quantité du même vaccin, soit 2 cc. de la dilution du vaccin au 1/1.000.

INOCULATION CUTANÉE

Deux méthodes s'offraient à nous :

- la méthode du grattage avec une pipette,
- la méthode des scarifications avec une lancette.

Nous ne rapporterons que deux des expériences faites à ce sujet.

Le 13 mai 1936, deux lapins de même poids sont, après rasage, inoculés sur le dos : l'un par grattage (grande plage de 120 cc²), l'autre par scarifications (une soixantaine); 2 cc. de vaccin au 1/1.000 sont utilisés chez chacun de ces lapins.

Une première saignée a été faite avant l'inoculation;

le dixième jour : deuxième saignée;

le douzième jour : troisième saignée;

le quinzième jour : quatrième saignée.

Ces divers sérums sont étudiés sur des lapins, selon notre technique.

Les sérums des premiers jours et dixième jour sont dépourvus de tout pouvoir anti-vaccin.

Les sérums du douzième jour donnent :

— Lapin inoculé par grattage :

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	2 pustules.
----------------	-----	-------------------	-------------



FASQUELLE

Expérience personnelle

$\frac{S}{128}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	3 pustules.
-----------------	-----	-------------------	-------------

$\frac{S}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	20 pustules.
-----------------	-----	-------------------	--------------

— Lapin inoculé par scarifications :

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	2 pustules.
----------------	-----	-------------------	-------------

$\frac{S}{128}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	2 pustules.
-----------------	-----	-------------------	-------------

$\frac{S}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	23 pustules.
-----------------	-----	-------------------	--------------

Les sérums du quinzième jour donnent un résultat semblable.

Donc, aucune différence, dans le temps d'apparition et dans le taux du pouvoir anti-vaccin, n'est apparue entre les sérums des deux lapins, inoculés l'un par grattage, l'autre par scarifications.

INOCULATION INTRA-DERMIQUE

Nous avons inoculé le 20 mai 1936 un lapin avec 2 cc. de V/1.000 en huit injections intradermiques.

Les résultats de l'étude du sérum de ce lapin sont les mêmes que ceux des deux lapins précédents.

Il est à noter que des pustules sont apparues au niveau de toutes les injections, sauf une.

Donc, il n'existait pas de différence dans le temps d'apparition et le taux du sérum virulicide, que l'inoculation ait été faite par grattage, scarification ou injection intra-dermique.

INOCULATION SOUS-CUTANÉE

Le 2 juin 1936, un lapin reçoit une injection sous-cutanée de 2 cc. de V/1.000; on a soin de chauffer le mandrin de l'aiguille avant de la retirer; il n'y a pas de pustule cutanée au point d'injection.

Le sérum de ce lapin donne les mêmes résultats que ceux des lapins précédents.

Donc, l'inoculation sous-cutanée a fait apparaître un pouvoir anti-vaccin dans le sérum, dans le même temps et au même taux que les inoculations cutanées.

INOCULATION INTRA-VEINEUSE

Le 2 juin 1936, nous injectons 2 cc. de V/1.000 dans la veine marginale d'un lapin; le 3 juin, le lapin est trouvé mort dans sa cage. L'autopsie ne montre rien.

Le 5 juin 1936, nous injectons 2 cc. de V/1.000 dilués dans 10 cc. d'eau physiologique dans la veine marginale de l'oreille d'un lapin. Le lapin survit.

Nous faisons des prises de sang le premier jour avant l'inoculation, le dixième jour, le douzième jour et le quinzième jour.

Le sérum du dixième jour donne :

$\frac{V}{1.000}$ étalon : éruption confluyente.

$\frac{S}{4}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 0 pustule.

$\frac{S}{16}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 2 pustules.

$\frac{S}{64}$ sur $\frac{V}{1.000}$ }
 $\frac{S}{128}$ sur $\frac{V}{1.000}$ } éruption confluyente
 $\frac{S}{256}$ sur $\frac{V}{1.000}$ }

Le sérum du douzième jour :

$\frac{V}{1.000}$ étalon : éruption confluyente.

$\frac{S}{4}$ sur $\frac{V}{1.000}$ }
 $\frac{S}{16}$ sur $\frac{V}{1.000}$ } 2 à 5 pustules.

$\frac{S}{64}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 21 pustules.

$\frac{S}{128}$ sur $\frac{V}{1.000}$ confluent.

$$\frac{S}{256} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad \text{confluent.}$$

Le sérum du quinzième jour :

$$\frac{V}{1.000} \text{ étalon : éruption confluyente.}$$

$$\left. \begin{array}{l} \frac{S}{4} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \\ \frac{S}{16} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \\ \frac{S}{64} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \end{array} \right\} 0 \text{ pustule.}$$

$$\frac{S}{128} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 30 \text{ pustules.}$$

$$\frac{S}{256} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad \text{confluent.}$$

Donc, il semble que l'injection intra-veineuse ait déterminé une apparition plus précoce du pouvoir anti-vaccin; mais au quinzième jour, le taux du pouvoir anti-vaccin paraissait plus faible que celui de lapins inoculés sur la peau.

Cette question, pour être tranchée, devra être à nouveau étudiée dans de multiples expériences.

INOCULATION CORNÉENNE

Camus, à la suite d'inoculations cornéennes, ne constata pas de pouvoir virulicide dans le sérum; rapprochant ce fait du fait que la cornée d'un lapin immunisé par inoculation cutanée reste réceptive à l'inoculation de vaccin sur la cornée, il conclut à la dissociation des immunités cutanée et cornéenne.

Le 3 juillet 1936, nous inoculons un lapin sur les deux cornées : scarifications en croix, à l'aide d'un vaccinostyle trempé dans 2 cc. de V/1.000.

En soixante-douze heures, kératite bilatérale.

Nous étudions le sérum des quinzième jour et vingtième jour.

Le sérum du quinzième jour paraît dépourvu de pouvoir virulicide.

Le sérum du vingtième jour donne :

V étalon : éruption confluyente.			
$\frac{1.000}{S}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{2}{S}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	10 pustules.
$\frac{4}{S}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	27 pustules.
$\frac{8}{S}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	} éruption confluyente.
$\frac{16}{S}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{32}{S}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	

Donc, le sérum du vingtième jour du lapin inoculé sur les 2 cornées était tel que :

$$\text{S neutralisait } 2 \frac{\text{V}}{1.000}$$

$$\text{S neutralisait incomplètement } 4 \frac{\text{V}}{1.000}$$

Cette expérience devra être recommencée, avant qu'une conclusion définitive puisse être portée. Est-ce parce que l'inoculation cornéenne n'introduit qu'une faible dose de vaccin, que le pouvoir virulicide du sérum est faible?

INOCULATION INTRA-CÉRÉBRALE

Le 2 octobre 1937, nous injectons 2 cc. de V/1.000 dans le cerveau d'un lapin. Le lapin meurt aussitôt.

Le 15 novembre 1937, nous inoculons 1/8 de cc. de V/1.000 dans le cerveau d'un lapin. Le lapin survit.

On sait, en effet, d'après Levaditi, que l'inoculation intra-cérébrale de vaccin cutané purifié (c'est-à-dire dépourvu de germes adventices) ne tue pas en général le lapin, tandis que l'inoculation du neuro-vaccin de Levaditi (souche spéciale, obtenue par passages testiculaires et cérébraux chez le lapin) tue, en injection intra-cérébrale, le lapin en trois ou quatre jours.

Nous prélevons du sang à ce lapin à multiples reprises. Les sérums des premiers jours (avant l'inocula-

tion), huitième, douzième, quinzième jour, ne paraissent pas doués de pouvoir virulicide.

Le sérum du vingtième jour donne :

$\frac{V}{1.000}$ étalon : éruption confluyente.		
$\frac{S}{2}$	sur $\frac{V}{1.000}$	2 pustules.
$\frac{S}{4}$	sur $\frac{V}{1.000}$	20 pustules.
$\frac{S}{8}$	sur $\frac{V}{1.000}$	éruption cohérente.
$\frac{S}{16}$	sur $\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
$\frac{S}{64}$	sur $\frac{V}{1.000}$	

Donc, le sérum de lapin qui avait reçu une injection intra-cérébrale de 1/8 de cc. de V/1.000 paraissait doué d'un pouvoir virulicide tel que :

$$S \text{ neutralisait } 2 \frac{V}{1.000}$$

$$S \text{ neutralisait incomplètement } 4 \frac{V}{1.000}$$

Signalons qu'un 3^e lapin, inoculé dans des conditions exactement semblables, mais qui avait présenté deux pustules cutanées, sur la peau du crâne, au niveau de l'injection, nous a donné un sérum dans lequel le taux virulicide était beaucoup plus élevé.

INOCULATION INTRA-TESTICULAIRE

Nous avons eu l'occasion d'étudier le pouvoir virulicide du sérum d'un lapin qui avait reçu, en cinquième passage, une injection de vaccin intra-testiculaire.

Le sérum était tel que :

$$\begin{array}{r} \text{S neutralisait complètement } 64 \quad \text{V} \\ \hline 1.000 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{S neutralisait incomplètement } 128 \quad \text{V} \\ \hline 1.000 \end{array}$$

c'est-à-dire que le taux virulicide de ce sérum paraissait très voisin du taux d'un sérum de lapin inoculé sur la peau.



Nous n'avons pas fait d'inoculations digestives ou intra-péritonéales.

Toutes ces expériences doivent être confirmées par de nouvelles expériences semblables, avant qu'une conclusion définitive soit portée.

Provisoirement, nous admettrons que les sérums de



FASQUELLE

Expérience personnelle

lapins inoculés par scarifications sur la peau, par grattage de la peau, par injection intradermique, par injection sous-cutanée, par injection intra-testiculaire, ont un pouvoir virulicide semblable dans son apparition et dans son taux.

Que l'inoculation cornéenne est suivie de l'apparition d'un pouvoir virulicide faible certes, mais néanmoins possible à mettre en évidence.

Influence *de la quantité de Vaccin injectée* *sur le pouvoir anti-vaccin du Sérum*

Le rôle de la dose de vaccin inoculée sur le pouvoir anti-vaccin du sérum est une question qui a déjà été soulevée par de nombreux auteurs.

Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard n'avaient pas trouvé plus fortement virulicide un sérum de génisse qui avait reçu pendant quarante-deux jours consécutifs une injection de virus vaccinal.

Camus, dans des expériences portant sur l'injection intra-veineuse de vaccin, a montré le rôle de la dose de vaccin inoculé sur l'apparition de l'immunité.

Gastinel, au cours d'injections sous-cutanées, intra-veineuses, intra-gastriques, chez le lapin, a noté l'influence de la dose sur l'apparition de l'immunité.

Henseval et Convent, à la suite d'expériences sur le lapin, concluent que la quantité de substance anti-virulente dépend dans une certaine mesure de la quantité

de vaccin inoculée et de l'importance de l'éruption déterminée.

M. Henri Bénard et Mlle Ber ont fait l'expérience suivante :

Trois lapins ont été inoculés avec un vaccin au 1/1.000 :

— le premier par une scarification linéaire de 1 cm. 5 (quantité approximative de vaccin 1/400 cm³),

— le deuxième par une plage grattée de $1 \times 2,5$ (quantité de vaccin : 1/40 cm³),

— le troisième par une plage grattée de 5×2 (quantité de vaccin : 1/10 cm³).

Les sérums prélevés avant le dixième jour sont dépourvus de pouvoir anti-vaccin.

Les sérums du dix-septième jour, mélangés tous trois dans la proportion de 1 goutte par 5 gouttes de V/1.000, ont donné :

— le sérum du premier lapin : 23 pustules,

— le sérum du deuxième lapin : 4 pustules,

— le sérum du troisième lapin : 1 pustule.

Un mois et demi plus tard, les trois sérums paraissent également virulicides.

Ils ont conclu que si la quantité de vaccin joue un rôle dans la précocité de l'apparition du pouvoir anti-vaccin, par contre cette quantité ne paraît pas avoir une grande influence sur le taux de ce pouvoir.

Nous-même, dans le chapitre précédent, à propos

de l'étude des sérums de lapins inoculés sur les cornées, avons soulevé l'hypothèse du rôle de la dose de vaccin inoculée.

Sur le conseil de M. Henri Bénard, nous avons fait l'expérience suivante :

Le 8 mars 1936, nous avons inoculé deux lapins :

— l'un, par une scarification linéaire de 1 cm., avec environ 1/500 de cc. de V/1.000,

— l'autre, sur une plage de 120 cm², avec 2 cc. de vaccin non dilué.

Nous avons prélevé du sang le premier jour (avant l'inoculation), le cinquième, le huitième jour, le douzième jour et le quarante-cinquième jour.

Les sérums des premier jour et cinquième jour paraissent dépourvus de pouvoir virulicide.

Les sérums du huitième jour donnaient respectivement :

V étalon : éruption conflue — Erup. confl.
1.000

S sur V éruption conflue — 2 pustules.
32 1.000

S sur V éruption conflue — 4 pustules.
64 1.000

S sur V éruption conflue — 3 pustules.
128 1.000

S sur V éruption conflue — 30 pustules.
256 1.000

$\frac{S}{512}$ sur $\frac{V}{1.000}$ éruption confluyente — 50 pustules.

Les sérums du douzième jour donnaient respectivement :

$\frac{V}{1.000}$ étalon : érupt. confl. — érupt. confl.

$\frac{S}{32}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 15 pustules — 1 pustule.

$\frac{S}{64}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 15 pustules — 3 pustules.

$\frac{S}{128}$ sur $\frac{V}{1.000}$ confluent — 3 pustules.

$\frac{S}{256}$ sur $\frac{V}{1.000}$ confluent — 6 pustules.

$\frac{S}{512}$ sur $\frac{V}{1.000}$ confluent — 60 pustules.

Les sérums d'un mois et demi donnaient respectivement :

$\frac{V}{1.000}$ étalon : confluent — confluent.

$\frac{S}{32}$ sur $\frac{V}{1.000}$ 1 pustule — 2 pustules.

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	3 pustules	—	3 pustules.
----------------	-----	-------------------	------------	---	-------------

$\frac{S}{128}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	3 pustules	—	3 pustules.
-----------------	-----	-------------------	------------	---	-------------

$\frac{S}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	30 pustules	—	27 pustules.
-----------------	-----	-------------------	-------------	---	--------------

$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	confluent	—	confluent.
-----------------	-----	-------------------	-----------	---	------------

Cette unique expérience doit être corroborée par d'autres.

Elle paraît indiquer qu'une grande quantité de vaccin, par rapport à une petite quantité de vaccin, fait apparaître un pouvoir virulicide plus précoce et plus fort au début; mais qu'ultérieurement le taux virulicide des deux sérums s'équilibre.

Il est à remarquer d'ailleurs que le même effet n'est peut-être pas noté, si les voies d'inoculation du vaccin changent : inoculations sous-cutanées, intra-veineuses, etc...

Il nous paraît intéressant de transcrire ici le protocole d'une expérience de Camus.

Deux lapins sont inoculés, par voie intra-veineuse, l'un avec 0 gr. 00005 par kg. de poids, de vaccin, l'autre avec 0 gr. 2 par kg. de poids, de vaccin.

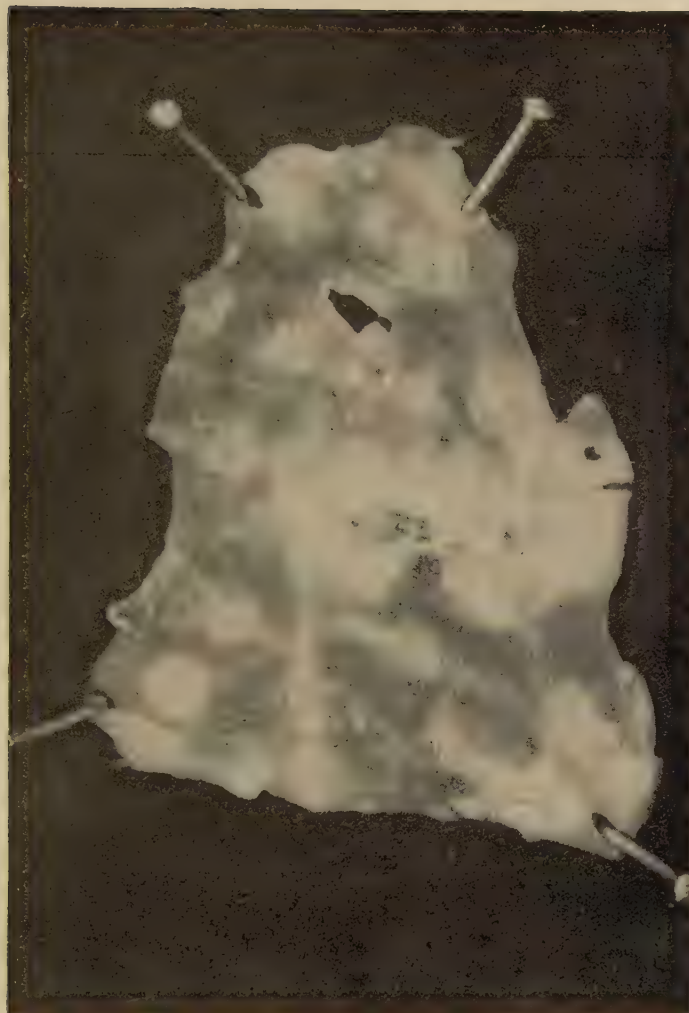
Le premier ne présente ni fièvre, ni chute de poids, ni pustules spontanées, trois symptômes que l'on constate chez le second.

Etudiés, les sérums donnent respectivement :

Premier jour : 60 pustules, 47 pustules,
Cinquième jour : 67 pustules, 19 pustules,
Huitième jour : 75 pustules, 3 pustules,
Douzième jour : 12 pustules, 3 pustules.

Camus conclut : le pouvoir virulicide apparaît plus tôt, quand la quantité du vaccin injecté est plus grande. Il ajoute dans une note : si une méthode suffisamment sensible pouvait révéler la moindre activité virulicide du sérum, il est probable qu'on en reconnaîtrait l'existence beaucoup plus tôt après la vaccination, et on serait amené à conclure que ce qui varie réellement, à l'origine, avec la quantité de vaccin employée, ce n'est pas l'époque du début de la réaction, mais bien la quantité de substance virulicide formée.

Nous nous contenterons de remarquer que chez notre deuxième lapin, celui qui avait reçu la grosse dose, le pouvoir virulicide est apparu très précocement et très fortement, mais s'est atténué un peu ultérieurement.



FASQUELLE

VACCIN D'ŒUF

Inoculation de vaccin dans la membrane chorio-allantoïdienne de l'embryon de poulet:
on distingue nettement les pustules

Influence *de la nature du Vaccin inoculé* *sur le pouvoir anti-vaccin du Sérum*

La vaccine est une affection qui peut être transmise à de très nombreuses espèces animales. La question ne paraît pas encore résolue, de savoir si, à l'origine, la vaccine était une affection spontanée du cheval (horse pox) ou de la génisse (cow-pox). En tous les cas, l'animal de choix pour la récolte du vaccin est la génisse; mais l'âne, dans certains Instituts vaccinaux, a été utilisé, comme aussi le buffle aux colonies (Indo-Chine); le lapin, de même, peut fournir un vaccin de très bonne activité. Enfin, durant ces dernières années, le cerveau de lapin (Levaditi), la membrane chorio-allantoïdienne de l'embryon de poulet ont tour à tour servi à la culture du vaccin. Nous avons déjà signalé que Plotz et René Martin avaient réussi la culture du vaccin en tubes, au contact d'extraits embryonnaires et de liquide de Tyrode.

Il nous a paru intéressant d'étudier le pouvoir anti-

vaccin du sérum de lapins inoculés respectivement avec des vaccins récoltés selon ces divers procédés.

Pour que nos expériences puissent être comparées entre elles, il fallait que la même dose de vaccin soit inoculée à chacun des lapins dont nous voulions étudier le sérum.

Par quelques expériences préliminaires, nous avons donc essayé de définir, pour chaque vaccin (1), la di-

(1) Sur la dénomination « vaccin », une remarque s'impose. Ce que nous appelons « dermo-vaccin normal », c'est un broyage de peau virulente (de génisse, d'âne ou de lapin) dans 4,5 parties d'eau glycinée; « neuro-vaccin normal », un broyage de cerveau virulent de lapin dans sept parties d'eau glyciné; « vaccin d'œuf normal », un broyage de membrane chorio-allantoïdienne virulente dans dix parties d'eau glycinée. Les « vaccins normaux » à comparer sont donc à des taux bien différents; par suite, il en est de même de leurs dilutions.

Il serait peut-être plus juste de ne pas tenir compte des vaccins dits normaux et de se reporter directement à la masse de substance récoltée (peau, cerveau, ou membrane chorio-allantoïdienne). Mais cette masse de même ne représente rien, par rapport au virus; si au lieu de broyer seulement la membrane chorio-allantoïdienne, on broyait tout l'embryon de poulet, la masse de substance récoltée augmenterait — et pourtant la quantité de virus resterait la même.

Il serait peut-être possible de définir arbitrairement une unité virulente qui permettrait de mesurer l'activité de différents vaccins; on pourrait définir cette unité, par rapport au nombre de pustules séparées constatées sur une plage de 20 cm.² de la peau de lapin, après inoculation par grattage de 3/10 de cc. de vaccin plus ou moins dilué. Ainsi un dermo-vaccin qui au 1/10.000 donnerait 30 pustules serait doué de : $30 \times 10.000 = 30.000$ unités virulentes; un neuro-vaccin qui au 1/100 donnerait 50 pustules serait doué de $50 \times 100 = 5.000$ unités virulentes. Mais si à ce procédé on ne pourrait refuser une valeur certaine dans la comparaison de la virulence de divers vaccins en pratique courante, il ne serait pas néanmoins à l'abri de toute critique au point de vue scientifique : en effet la virulence d'un même vaccin n'est pas forcément la même sur la peau de deux animaux différents (lapin et génisse, par exemple); et, à supposer qu'elle le soit, cette activité dermatrope n'est cependant qu'une des qualités par lesquelles peut se manifester la virulence potentielle d'un virus vaccinal; un neuro-vaccin, par exemple, en dehors de cette activité dermatrope est doué d'une activité neurotrope, sans aucun rapport avec la précédente. (Voir :

lution optima dont 3/10 de cc. donneraient une éruption confluyente sur une plage de 20 cc².

Nous avons obtenu les résultats suivants :

— pour le dermo-vaccin, qu'il soit récolté chez la génisse, l'âne ou le lapin : dilution au 1/1.000;

— pour le neuro-vaccin : dilution au 1/10;

— pour le vaccin d'œuf : dilution au 1/10.

Ces différentes dilutions correspondent ainsi à une même activité dermatrope.

Nous avons alors décidé d'inoculer chacun des lapins dont nous voulions étudier le sérum avec 2 cc. de nos dilutions.

Chez chacun des lapins ainsi inoculés, nous avons fait une prise de sang le dixième jour et le quinzième jour — et nous avons étudié les effets de ces sérums au 1/4, 1/64, 1/512.

Voici les résultats de nos expériences :

Lapin inoculé par 2 cc. de dermo-vaccin de génisse au 1/1.000 sur 120 cc.

Sérum du dixième jour :

S	sur	V	30 pustules.
4		1.000	

Levaditi, Fasquelle, Reinié et Schoen, *Annales Pasteur*, sous presse.) Caractériser un vaccin par la seule appréciation de sa virulence dermatrope est peut-être commode au point de vue pratique, mais paraît insuffisant au point de vue scientifique. Nous nous proposons de revenir ultérieurement sur ce point avec notre Maître, M. Henri Bénard.

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
----------------	-----	-------------------	-----------------------

$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
-----------------	-----	-------------------	-----------------------

Sérum du quinzième jour :

$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	2 pustules.
---------------	-----	-------------------	-------------

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	4 pustules.
----------------	-----	-------------------	-------------

$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
-----------------	-----	-------------------	-----------------------

Lapin inoculé par 2 cc. de dermo-vaccin d'âne au 1/1.000 sur 120 cm.². Mêmes résultats.

Lapin inoculé par 2 cc. de dermo-vaccin de lapin au 1/1.000 sur 120 cm.². Mêmes résultats.

Lapin inoculé par 2 cc. de neuro-vaccin au 1/10 sur 120 cm.².

Sérum du dixième jour :

$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
---------------	-----	-------------------	-----------------------

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
----------------	-----	-------------------	-----------------------

$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
-----------------	-----	-------------------	-----------------------

Sérum du quinzième jour :

$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	1 pustule.
---------------	-----	-------------------	------------

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	5 pustules.
----------------	-----	-------------------	-------------

$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.
-----------------	-----	-------------------	-----------------------

Lapin inoculé par 2 cc. de vaccin d'œuf au 1/10 sur 120 cm.².

Sérum du dixième jour :

$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	confluyente.
---------------	-----	-------------------	--------------

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	confluyente.
----------------	-----	-------------------	--------------

$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	confluyente.
-----------------	-----	-------------------	--------------

Sérum du quinzième jour :

$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	6 pustules.
---------------	-----	-------------------	-------------

$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	40 pustules.
$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	confluente.

En somme : le neuro-vaccin, et le vaccin d'œuf ont donné un pouvoir anti-vaccin à peu près semblable à celui donné par le dermo-vaccin; toutefois, le pouvoir anti-vaccin nous a semblé apparaître un peu plus précocement après inoculation de dermo-vaccin; il nous a semblé un peu plus faible après inoculation de vaccin d'œuf. Ces quelques expériences sont trop peu nombreuses pour que nous puissions en tirer une conclusion.

**
**

La nature de plusieurs vaccins peut différer, nous venons de le voir, par le procédé de culture du virus vaccinal; mais elle peut également différer, pour les vaccins récoltés sur les téguments, par la présence ou l'absence de germes adventices, en particulier de staphylocoques.

Nous avons voulu étudier le rôle de ces germes sur la détermination du pouvoir anti-vaccin du sérum.

Nous avons donc pris deux vaccins de génisse :

— l'un purifié, qui, en culture sur gélose en boîte de Petri, ne donnait pas de colonies,

— l'autre, non purifié, dont la culture sur gélose en boîte de Petri montrait 1.000.000 colonies au cm.³.

De ces deux vaccins, 3/10 de cc. au 1/1.000 donnaient une éruption confluyente sur une plage de 20 cm.².

Lapin inoculé par 2 cc. de vaccin purifié au 1/1.000 sur 120 cm.².

Sérum du dixième jour :

$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	} éruptions confluentes.
$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	
$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	

Sérum du quinzième jour :

$\frac{S}{4}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	2 pustules.
$\frac{S}{64}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	3 pustules.
$\frac{S}{512}$	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluyente.

Lapin inoculé par 2 cc. de vaccin non purifié au 1/1.000 sur 120 cm.².

A noter que ce lapin a présenté une éruption hé-

morragique en quelques points, un très gros épaissement de la peau, de la fièvre et un certain amaigrissement.

Sérum du dixième jour :

$$\frac{S}{4} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 0 \text{ pustule.}$$

$$\frac{S}{64} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 2 \text{ pustules.}$$

$$\frac{S}{512} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 60 \text{ pustules.}$$

Sérum du quinzième jour :

$$\frac{S}{4} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 1 \text{ pustule.}$$

$$\frac{S}{64} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 2 \text{ pustules.}$$

$$\frac{S}{512} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad \text{éruption cohérente.}$$

Ainsi dans cette expérience la présence de germes adventices nous a paru entraîner une apparition plus précoce et une élévation du taux du pouvoir virulicide; mais une expérience ne peut permettre de conclure.



FASQUELLE

VACCIN VIVANT

Inoculation d'un vaccin vivant sur la cornée du lapin :
on distingue nettement les corps de Guarnieri



Nous n'avons pas fait d'expériences avec le vaccin cultivé en tubes. Nous remercions M. H. Plotz d'avoir bien voulu nous donner un échantillon de sérum de lapin inoculé avec du vaccin cultivé en tubes; nous nous proposons d'étudier le pouvoir virulicide de ce sérum.



LE VACCIN TUÉ

Dans toutes les expériences précédentes, nous avons eu recours à un virus vivant; que ce virus provienne de la peau de la génisse, du lapin, de l'âne et qu'il soit accompagné ou non de germes adventices, qu'il ait été cultivé dans le cerveau du lapin, la membrane chorio-allantoïdienne de l'œuf ou même en tubes de Tyrode, il s'agit d'un virus vivant; inoculé sur la peau, il donne lieu à la formation de pustules, sur la cornée à la formation de corps de Guarniéri.

Ce virus vivant a été longtemps regardé comme la seule matière vaccinante utilisable pour la vaccination; on considérait même que la pustule était indispensable pour qu'il y ait vaccination. Mais lorsque ultérieurement on a constaté que la formation pustuleuse était superflue, que la pustule pouvait être excisée ou cautérisée, sans que le résultat de la vaccination soit modifié, qu'au surplus la vaccination était réalisable par les voies

sous-cutanée et intra-veineuse sans formation de pustules, alors s'est posée la question de savoir si la qualité vivante du virus était une qualité indispensable pour l'obtention de l'immunité. C'était le problème du vaccin tué qui se posait, le problème de la vaccination avec du « matériel inanimé », disent les auteurs allemands. De multiples recherches ont été entreprises à ce sujet; leurs résultats sont contradictoires.

Ainsi Janson, par injection sous-cutanée de lymphes chauffées à des enfants, n'obtient aucun résultat; Knopfmacher, en inoculant une grande quantité de vaccin chauffé à 70°, réalise une faible immunité; il en obtient une meilleure avec un vaccin chauffé seulement à 58°; Henseval trouve efficace la vaccination réalisée par l'injection intra-veineuse à des animaux d'un vaccin chauffé à 60°, inefficace la vaccination semblable faite avec un vaccin chauffé à 70°. Kraus et Volk obtiennent des résultats toujours positifs chez le singe avec une lymphe portée à 60°, toutes les demi-heures. Süpfle réalise une immunité plus ou moins forte, par emploi d'une lymphe chauffée à 60° pendant une heure. Von Prowasek détruit la lymphe non par chauffage, mais par mélange à parties égales de lymphe et de bile de lapin — et avec le mélange produit une certaine immunité chez les singes. Gins obtint une faible immunité avec du vaccin tué.

A côté de ces résultats positifs, toute une liste de résultats négatifs peut être dressée : Arnt n'obtient jamais de bons résultats avec une lymphe inactivée par chauffage ou mélange avec bile de lapin. Tomarkin et Suarez après inoculation de vaccin tué ne constatent ni

formation d'anticorps, ni immunité. Groth échoue de même avec un vaccin inactivé par chauffage à 56°.

Murata, Gordon ont obtenu des résultats intéressants : Murata réalise chez le lapin par injection cutanée, sous-cutanée ou intra-péritonéale d'une lymphe chauffée une heure à 60° une réelle, mais faible immunité. Les lapins réagissent à la vaccination témoin plus faiblement qu'un lapin neuf ; leur sérum est doué d'un pouvoir virulicide. Gordon obtient de même un résultat positif avec un vaccin inactivé par chauffage à 50° une demi-heure ou par adjonction de phénol ; s'il inocule dans le tissu cellulaire sous-cutané une grande quantité de cette lymphe (0,2 gramme), le lapin ultérieurement ne réagit pas à l'inoculation témoin d'un vaccin au 1/10. En revanche, le chauffage de la lymphe à une température supérieure à 65° la rend impropre à la réalisation de l'immunité.

Enfin, Gastinel, Reilly et Mortier, par inoculations répétées de vaccin tué, obtiennent un pouvoir virulicide du sérum, sans que la réceptivité de la peau à une inoculation témoin de vaccin soit disparue.

Tous ces résultats sont contradictoires. Deux raisons nous paraissent pouvoir expliquer leur absence de concordance :

— D'abord la technique utilisée pour l'inactivation de la lymphe a été fort diverse : ne peut-on supposer d'une part qu'un trop faible chauffage laisse en vie une faible quantité de virus, insuffisante pour faire apparaître un certain degré d'immunité, — et que la lymphe présumée tuée n'est en réalité qu'une lymphe de virulence très diminuée ? — d'autre part qu'un trop fort

chauffage, bousculant la constitution physico-chimique du vaccin, lui retire sa qualité d'antigène vaccinal ?

— Ensuite, les animaux d'expérience appartenaient à des espèces très différentes, ne réagissant pas forcément de manière analogue.

Nous avons donc cru intéressant de reprendre cette étude.

Nous avons essayé de nous mettre à l'abri des erreurs de technique que nous venons de signaler ; nous avons opéré de la manière suivante :

Nous avons toujours opéré sur le même animal, le lapin.

Nous avons tué notre vaccin par séjour à l'étuve, un mois à 38° ; nous nous sommes assuré qu'il ne donnait lieu ni à l'apparition de pustules sur le dos du lapin, ni à la formation de corps de Guarniéri sur la cornée. Le chauffage à 38° un mois en effet nous paraissait insuffisant pour provoquer la désintégration physico-chimique du vaccin et cependant suffisant pour lui retirer tout caractère vivant.

Sur huit lapins consacrés à cette étude, quatre sont morts, deux petits de froid, un par accident (fracture de la colonne vertébrale, au cours d'une prise de sang), le quatrième sans raison apparente.

Voici le protocole des expériences sur les quatre autres lapins :

Premier lapin

Le 17 décembre 1936, il est inoculé avec notre vaccin tué par :

— grattage sur deux plages de 20 cm.² avec pour chacune 3/10 de cc. de vaccin tué;

10

— grattage sur deux plages de 20 cm.² avec pour chacune 3/10 de cc. de vaccin tué;

100

— deux injections intradermiques de 2/10 de cc. de vaccin tué;

10

— deux injections intradermiques de 2/10 de cc. de vaccin tué.

100

Le 22 décembre 1936,

— on ne constate aucune pustule; au niveau des injections intradermiques, la peau est souple;

— on prélève du sang le quinzième jour.

Résultats :

1. — Réceptivité de la peau :

Le 5 janvier, le lapin est inoculé avec un vaccin témoin au 1/1.000 par trois scarifications et grattage sur une plage de 20 cm.².

Cinq jours plus tard, on note trois grosses pustules au niveau des scarifications, et une éruption cohérente au niveau de la plage.

2. — Le sérum :

étudié sur un lapin, il donne :

V étalon : éruption confluyente.

1.000

Sérum	5 ^e jour	sur	<u>V</u>	éruption confluyente.
	4		1.000	

Sérum	5 ^e jour	sur	<u>V</u>	éruption confluyente.
	8		1.000	

Sérum	15 ^e jour	sur	<u>V</u>	1 pustule.
	4		1.000	

Sérum	15 ^e jour	sur	<u>V</u>	3 pustules.
	8		1.000	

Sérum	15 ^e jour	sur	<u>V</u>	15 pustules.
	16		1.000	

Deuxième lapin

Le 28 janvier 1937, il est inoculé avec notre vaccin tué par :

— grattage sur une plage de 20 cm.² avec 3/10 de cc. de vaccin tué non dilué,

— une injection intra-dermique de 2/10 de vaccin tué non dilué,

— trois injections intra-dermiques de 2/10 de vaccin tué,

25

— cinq scarifications de vaccin tué non dilué,

— une injection sous-cutanée de 2 cc. de vaccin tué,

25

— trois scarifications sur les lèvres, avec le vaccin tué pur.

— trois scarifications sur les narines, avec le vaccin tué pur.

Le 3 février 1937, aucune pustule n'est constatée; petite induration au niveau de l'injection intra-dermique de vaccin tué non dilué.

Le 25 février, une prise de sang est faite.

Résultats :

1. — Réceptivité de la peau :

Le 31 mars, on inocule le lapin avec un vaccin témoin :

— par trois scarifications de V non dilué,

— par grattage sur une plage de 20 cm.² avec V/1.000.

Cinq jours plus tard, trois grosses pustules au niveau des scarifications, une éruption cohérente au niveau de la plage sont notées.

2. — Le sérum :

Est étudié sur deux lapins, comparativement avec un sérum anti-vaccin d'activité contrôlée antérieurement; sur le premier, il donne :

V étalon : éruption confluyente.

1.000

<u>Sérum anti-vaccin connu</u>	sur	<u>V</u>	0 pustule.
2		1.000	
<u>Sérum anti-vaccin connu</u>	sur	<u>V</u>	2 pustules.
32		1.000	
<u>Sérum anti-vaccin tué</u>	sur	<u>V</u>	2 pustules.
2		1.000	
<u>Sérum anti-vaccin tué</u>	sur	<u>V</u>	15 pustules.
8		1.000	
<u>Sérum anti-vaccin tué</u>	sur	<u>V</u>	60 pustules.
32		1.000	

Sur le deuxième lapin, il donne :

V étalon : éruption confluyente.
1.000

<u>Sérum anti-vaccin connu</u>	sur	<u>V</u>	2 pustules.
2		1.000	
<u>Sérum anti-vaccin connu</u>	sur	<u>V</u>	5 pustules.
4		1.000	
<u>Sérum anti-vaccin tué</u>	sur	<u>V</u>	8 pustules.
2		1.000	
<u>Sérum anti-vaccin tué</u>	sur	<u>V</u>	15 pustules.
4		1.000	

Troisième et quatrième lapins

Ces deux lapins, l'un beige, l'autre gris, sont inoculés le même jour, 19 avril 1937.

- par trois scarifications avec V tué non dilué,
- par injection intra-dermique de 2/10 de cc. de V tué non dilué,
- par 2 cc. sous-cutané de V tué,

25

auparavant, une saignée avait été faite, à chacun d'entre eux, le 25 avril 1937.

Aucune pustule chez nos deux lapins.

Le 24 mai 1937, on fait à chacun une saignée.

Résultats :

1. — Réceptivité cutanée :

Le 21 juin, les deux lapins sont réinoculés chacun par trois scarifications de vaccin témoin non dilué, par grattage sur trois plages de 20 cm.², avec des dilutions de V/10, V/100, V/1.000.

Cinq jours plus tard, trois grosses pustules au niveau des scarifications sont apparues.

Chez ces deux lapins, les plages au 1/10 et 1/100 sont le siège d'une éruption confluyente, les plages avec 1/1.000 donnent chez le lapin beige une éruption cohérente, chez le lapin gris 60 pustules.

2. — Les sérums des deux lapins :

Ils sont étudiés chez trois lapins à des dilutions diverses, le sérum après vaccination par vaccin tué étant à chaque fois comparé au sérum avant la vaccination.

Ainsi :

Premier lapin :

<u>V</u> étalon : confluyente.				
1.000				
Sérum gris	avant	sur	<u>V</u>	confluyente.
2			1.000	
Sérum beige	avant	sur	<u>V</u>	confluyente.
2			1.000	
Sérum gris	après	sur	<u>V</u>	2 pustules.
2			1.000	
Sérum beige	après	sur	<u>V</u>	4 pustules.
2			1.000	

Deuxième lapin. :

<u>V</u> étalon : confluyente.				
1.000				
Sérum gris	avant	sur	<u>V</u>	confluyente.
8			1.000	
Sérum beige	avant	sur	<u>V</u>	confluyente.
8			1.000	
Sérum gris	après	sur	<u>V</u>	4 pustules.
8			1.000	
Sérum beige	après	sur	<u>V</u>	10 pustules.
8			1.000	

Troisième lapin :

<u>V</u>		étalon : confluyente.
1.000		
Sérum gris	avant sur	<u>V</u> confluyente.
32		1.000
Sérum beige	avant sur	<u>V</u> confluyente.
32		1.000
Sérum gris	après sur	<u>V</u> 40 pustules.
32		1.000
Sérum gris	après sur	<u>V</u> cohérente.
32		1.000

En conclusion :

Notre vaccin tué, c'est-à-dire chauffé à l'étuve à 38°, un mois, ne donnant pas de corps de Guarniéri sur la cornée, inoculé en grattage, scarifications, injections intra-dermiques et injection sous-cutanée de 2 cc. au 1/25 donne les résultats suivants chez le lapin :

1. — Il ne fait pas disparaître la sensibilité à une inoculation ultérieure de vaccin témoin.

2. — Il fait apparaître un pouvoir anti-vaccin dans le sérum.

Mais :

1. — La réceptivité cutanée paraît cependant très

légèrement diminuée (éruption de nombreuses pustules ou éruption cohérente, au lieu d'une éruption confluente).

2. — Le pouvoir anti-vaccin du sérum est tel que :

S neutralise	complètement	8	$\frac{V}{1.000}$
--------------	--------------	---	-------------------

S neutralise	incomplètement	32	$\frac{V}{1.000}$
--------------	----------------	----	-------------------

c'est-à-dire qu'il est de taux plus faible que celui d'un lapin inoculé avec vaccin vivant.

Ainsi, à un pouvoir anti-vaccin plus faible du sérum de lapin inoculé avec vaccin tué, par rapport au pouvoir anti-vaccin du sérum de lapin inoculé avec vaccin vivant,

semble correspondre :

une réceptivité plus faible de la peau à l'inoculation de vaccin témoin, par rapport à la sensibilité de la peau d'un lapin neuf.

Ces notions quantitatives correspondantes de la sensibilité de la peau et du pouvoir anti-vaccin du sérum, chez des lapins inoculés avec du vaccin tué, nous paraissent d'autant plus intéressantes que cette inoculation même de vaccin tué fait intervenir des doses quantitativement mesurables; or, il n'en est jamais de même avec du vaccin vivant, puisque le virus se multiplie aussitôt qu'il a pénétré dans l'organisme.

Influence

de certaines conditions extérieures

sur le pouvoir anti-vaccin du Sérum

Dans les chapitres précédents, nous avons étudié l'influence, sur le pouvoir anti-vaccin du sérum, du mode d'introduction du vaccin, de la quantité de vaccin, de la nature du vaccin : ce sont en somme les conditions intrinsèques de l'inoculation du vaccin que nous faisons varier, c'est-à-dire les conditions portant soit sur le vaccin lui-même, soit sur l'acte de la vaccination. Ce que nous voulons étudier maintenant, ce sont les conditions extrinsèques, les conditions extérieures à la vaccination.

De nombreuses expériences sur ce sujet étant actuellement en cours, nous ne pouvons donner aujourd'hui que quelques résultats.

Les expériences que nous rapporterons portent sur l'influence de la déshydratation, de la fièvre et de l'injection de chlorure de calcium. A vrai dire, si l'in-

jection de chlorure de calcium a été tentée volontairement par nous, par contre l'étude de la déshydratation et de la fièvre résultent au contraire d'expériences spontanées qui se sont déroulées devant nous; nous nous sommes contentés d'observer.

INFLUENCE DE LA DÉSHYDRATATION SUR LE POUVOIR ANTI-VACCIN DU SÉRUM

Le 7 novembre 1935, nous inoculons un lapin; il pèse 2 kg. 650.

Le 12 novembre 1935, alors que nous pensions constater les résultats de l'inoculation, nous trouvons notre lapin blotti dans un coin de sa cage, décharné, les os saillants sous la peau; sur les six plages d'inoculation, la peau est sèche, écailleuse; aucune trace d'éruption ni de pustules. L'amaigrissement est considérable : le lapin pèse 1 kg. 950 (en cinq jours, amaigrissement de 700 grammes).

Nous remarquons alors que la petite boîte en fer servant d'abreuvoir à notre lapin (les lapins sont nourris avec du foin et du son, non avec de la verdure; d'où nécessité de les faire boire) est percée : chaque jour, elle a été ponctuellement remplie; mais elle s'est vidée aussitôt.

Nous remplaçons la boîte-abreuvoir; pendant un quart d'heure, notre lapin ne cesse de boire; nous devons remplir l'abreuvoir deux fois en quatre heures.

Le 13 novembre 1935, le lapin a de la diarrhée, mais a repris du poids.

Le 14 novembre 1935, il a changé d'aspect; la colonne vertébrale, les côtes paraissent moins saillantes sous la peau; celle-ci est érythémateuse sur les six plages.

Le 15 novembre, le lapin pèse 2 kg. 300; des pustules typiques sont apparues.

En somme, la déshydratation semble avoir retardé de trois jours l'apparition des pustules.

Alertés par ce retard, nous décidons d'étudier le pouvoir anti-vaccin du sérum de ce lapin, primitivement destiné à d'autres expériences.

Le 17 novembre, le 19 novembre, le 22 novembre 1935, nous pratiquons des prises de sang, soit aux dixième, douzième et quinzième jour, après la vaccination.

Normalement, le pouvoir anti-vaccin du sérum est ébauché le dixième, très net le douzième jour.

Le sérum des deux premières saignées est totalement dépourvu de pouvoir virulicide, même aux dilutions S/4 et S/2.

Au contraire, le quinzième jour, l'activité du sérum est telle que :

S neutralise complètement	128	$\frac{V}{1.000}$
S neutralise incomplètement	256	$\frac{V}{1.000}$

c'est-à-dire que le pouvoir virulicide est normal.

Conclusion : l'apparition du pouvoir anti-vaccin du

sérum a été retardée de 3 jours, exactement comme l'apparition des pustules.

INFLUENCE DE LA FIÈVRE

Il s'agit du lapin inoculé sur une plage de 120 cm.² avec 2 cc. de vaccin, très chargé en germes adventices (1.000.000 colonies au cc³) que nous avons étudié dans un chapitre précédent.

Nous avons vu que cinq jours après l'inoculation, la plage était le siège d'une éruption extrêmement violente, en quelques points hémorragiques; l'épaississement de la peau était considérable.

Le lapin était blotti au fond de sa cage, très chaud; l'amaigrissement était de 200 grammes.

Nous rappelons que le pouvoir virulicide du sérum de ce lapin était plus précoce et plus marqué que celui d'un lapin inoculé avec du vaccin purifié.

Cette augmentation du pouvoir anti-vaccin est-elle donc due à la présence des germes adventices dans le vaccin — ou à la fièvre provoquée par l'importance de la réaction cutanée?

Nous nous proposons de reprendre ultérieurement cette étude.

INFLUENCE D'UNE INJECTION DE CHLORURE DE CALCIUM

Le 3 novembre 1936, nous faisons à un lapin une injection sous-cutanée de :

$$1 \text{ cc. de } \frac{V}{1.000}$$

$$+ 1 \text{ cc. de Ca Cl}^2 \text{ au } \frac{1}{100}$$

Nous prélevons du sang le douzième jour, le trentième jour, le soixantième jour.

Voici les résultats de l'étude de ces trois sérums.

Sérum du douzième jour :

$$\frac{V}{1.000} \quad \text{étalon :} \quad \text{éruption confluyente.}$$

$$\frac{S}{32} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 0 \text{ pustule.}$$

$$\frac{S}{64} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 0 \text{ pustule.}$$

$$\frac{S}{128} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 5 \text{ pustules.}$$

$$\frac{S}{256} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 5 \text{ pustules.}$$

$$\frac{S}{512} \text{ sur } \frac{V}{1.000} \quad 30 \text{ pustules.}$$

Sérum de un mois :

Mêmes résultats.

Sérum de deux mois :

1

$\frac{V}{1.000}$	étalon :	confluente.
$\frac{S}{32}$	sur $\frac{V}{1.000}$	0 pustule.
$\frac{S}{64}$	sur $\frac{V}{1.000}$	4 pustules.
$\frac{S}{128}$	sur $\frac{V}{1.000}$	4 pustules.
$\frac{S}{256}$	sur $\frac{V}{1.000}$	10 pustules.
$\frac{S}{512}$	sur $\frac{V}{1.000}$	éruption cohérente.

Conclusion : les sérums de douze jours et trente jours paraissent avoir un pouvoir anti-vaccin plus marqué que celui de lapins inoculés simplement par une injection sous-cutanée de vaccin sans adjonction de chlorure de calcium.

Tels sont les seuls résultats que nous pouvons présenter aujourd'hui.

Nous pensons qu'il sera intéressant d'étudier l'effet d'injections de lanoline, de tapioca, de dmelcos, de propidon, de vaccin T. A. B. sur le pouvoir anti-vaccin du sérum, non seulement chez le lapin, mais aussi chez la génisse, le cheval. Nous croyons qu'il faudra aussi

étudier l'effet de ces substances chez des animaux déjà vaccinés, dont le pouvoir virulicide du sérum est connu; on pourra ainsi se rendre compte si le taux virulicide du sérum subit une hausse, du fait de l'injection de ces substances.

Les Caractères du pouvoir anti-vaccin du Sérum

Qu'est-ce que le pouvoir anti-vaccin, le pouvoir virulicide du sérum?

Cette question qui se pose pour le pouvoir virulicide du sérum dans la vaccine paraît bien voisine de celle qui se pose pour le pouvoir précipitant, le pouvoir agglutinant du sérum, dans la plupart des infections.

Que l'on parle de substances virulicides, d'anti-corps virulicides, cela ne résout nullement le problème et a peut-être l'inconvénient de matérialiser trop nettement cette faculté que possède le sérum de sujets vaccinés de neutraliser l'action du vaccin. C'est pourquoi nous avons préféré employer le mot : « pouvoir anti-vaccin », « pouvoir virulicide ».

Tout ce que nous nous croyons autorisés à faire, c'est d'exposer les principaux caractères de ce pouvoir anti-vaccin.

Les travaux de Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard, ceux de Camus et de bien d'autres auteurs

avaient permis de définir la plupart de ces caractères. Nous les rappellerons.

Le pouvoir anti-vaccin résiste au temps : le pouvoir virulicide d'un sérum, conservé deux ans à la glacière, n'est pas diminué.

Il résiste à la chaleur; le chauffage d'un sérum jusqu'à 70° n'altère pas son pouvoir anti-vaccin; par contre, le chauffage au-dessus de 76° paraît diminuer ou supprimer le pouvoir virulicide.

Il résiste à la lumière solaire; Bécclère et ses collaborateurs l'avaient montré; Mlle Ber a prouvé que les rayons ultra-violetts ne détruisent pas le pouvoir virulicide.

Le développement de moisissures dans le sérum, l'infection du sérum ne semblent pas modifier son pouvoir virulicide.

La filtration dans le vide sous pression atmosphérique, à travers des bougies de porcelaine, d'alumine, n'a pas d'effet appréciable sur le pouvoir virulicide; même sans pression, le pouvoir virulicide passe à travers la paroi des bougies (Camus) ; mais le liquide filtré perd sa transparence par chauffage et donne 4 % d'extrait sec, donc contient des substances coagulables par la chaleur.

Le pouvoir virulicide par contre ne dialyse pas; il reste entier dans le liquide contenu dans le dialyseur.

Tous ces caractères font supposer que le pouvoir virulicide est attaché aux substances albuminoïdes du sérum.

De fait, la précipitation des matières albuminoïdes

du sérum par l'alcool paraît entraîner tout le pouvoir virulicide; le filtrat est dépourvu de pouvoir anti-vaccin.

Béclère, Chambon, Saint-Yves Ménard et Jousset, par la méthode de Hammarsten au sulfate de magnésie, ont séparé les globulines des sérines du sérum. Ils ont noté que tout le pouvoir virulicide paraissait attaché aux globulines, à l'exclusion des sérines. Le précipité de globuline, avant d'être redissous dans l'eau physiologique, pouvait être soumis à des températures de 100° une demi-heure, ou 125° un quart d'heure, sans que le pouvoir virulicide paraisse être diminué.



Nous avons repris cette étude des globulines du sérum d'animaux vaccinés.

Nous avons utilisé le sulfate de soude, selon la méthode de Howe, pour précipiter les globulines.

Howe dit que le sulfate de soude précipite toutes les globulines du sérum quand sa concentration est de 21,5 % en sulfate anhydre.

Il recommande le procédé pratique suivant : préparer une solution à 22,2 % de sulfate de soude anhydre; en prendre 15 cc. auxquels on ajoute 0 cc. 5 de sérum. La précipitation se fait dans des tubes à essais, fermés d'un bouchon de caoutchouc, à l'étuve; le filtrage est pratiqué en système fermé, à l'étuve; les globulines sont sur le filtre, en précipité; les sérines dans le filtrat.

Nous avons adapté cette méthode à nos besoins.

Nous préparons notre solution de sulfate de soude

pour 20 cc., donc nous devons utiliser 4 gr. 44 de sulfate de soude.

Nous employons du sulfate de soude ($\text{SO}^4\text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O}$) et non du sulfate de soude anhydre.

D'après le poids moléculaire :

$$(\text{SO}^4\text{Na}^2 \text{ anhydre}) 142 = (\text{SO}^4\text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O}) 160$$

Donc :

$$1 (\text{SO}^4\text{Na}^2 \text{ anhydre}) = \frac{160}{142} (\text{SO}^4\text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O})$$

c'est-à-dire

$$4,44 (\text{SO}^4\text{Na}^2 \text{ anhydre}) =$$

$$\frac{160}{142} \times 4,44 (\text{SO}^4\text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O}) =$$

$$5(\text{SO}^4\text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O}).$$

Nous diluons par conséquent 5 gr. de ($\text{SO}^4\text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O}$) dans 20 cc. d'eau distillée.

Nous prenons 15 cc. de cette solution, auxquels nous ajoutons 0,5 de sérum.

Mais le précipité est en trop petite quantité.

Au lieu de dissoudre le sulfate de soude dans l'eau distillée, nous avons décidé de le dissoudre directement dans le sérum. Puisque la concentration du sulfate de soude doit être de 21,5 %, il faut utiliser :

pour

$$142 (\text{SO}^4 \text{Na}^2 \text{ anhydre}) = 160 (\text{SO}^4 \text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O})$$

pour

$$1 (\text{SO}^4 \text{Na}^2 \text{ anhydre}) = \frac{160 (\text{SO}^4 \text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O})}{142}$$

pour 21,5 ($\text{SO}^4 \text{Na}^2$ anhydre) =

$$\frac{160 \times 21,5}{142} (\text{SO}^4 \text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O}) = 24,2 (\text{SO}^4 \text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O})$$

Or, nous opérons non sur 100, mais sur 10 cc.
Donc nous employons 2,42 gr. de ($\text{SO}^4 \text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O}$).

Mais nous opérons non sur de l'eau, mais sur du sérum.

Le sérum contient 91,6 d'eau pour 100 de sérum;

soit 1 d'eau pour $\frac{100}{91,6}$ de sérum; ou 10 d'eau

$$\text{pour } \frac{100 \times 10}{91,6} \text{ de sérum} = 10,91 \text{ de sérum.}$$

En conclusion, il faut donc dissoudre :

2,42 gr. de ($\text{SO}^4 \text{Na}^2 + 1 \text{H}^2\text{O}$) dans 10,91 de sérum.

Nous avons ainsi obtenu :

sur le filtre : le précipité de globulines,
dans le filtrat : la solution de sérines.

Désirant étudier comparativement l'effet des globulines et des sérines sur le vaccin, nous avons redissous les

globulines dans une quantité d'eau salée égale au volume de sérum dont nous étions parti — et porté le volume de la solution de sérine au même volume.

Chez plusieurs lapins, en ayant soin de toujours vérifier chez chaque lapin que V/1.000 étalon donnait une éruption confluyente, nous avons trouvé :

<u>Sérines</u>	sur	<u>V</u>	éruption confluyente.
32		1.000	
<u>Sérines</u>	sur	<u>V</u>	éruption confluyente.
64		1.000	
<u>Sérines</u>	sur	<u>V</u>	éruption confluyente.
128		1.000	
<u>Sérines</u>	sur	<u>V</u>	éruption confluyente.
256		1.000	
<u>Sérines</u>	sur	<u>V</u>	éruption confluyente.
512		1.000	

d'une part.

D'autre part :

<u>Globulines</u>	sur	<u>V</u>	1 pustule.
32		1.000	
<u>Globulines</u>	sur	<u>V</u>	4 pustules.
64		1.000	
<u>Globulines</u>	sur	<u>V</u>	18 pustules.
128		1.000	

Globulines	sur	$\frac{V}{1.000}$	33 pustules.
256			

Globulines	sur	$\frac{V}{1.000}$	éruption confluenta.
512			

Conclusion : le pouvoir virulicide du sérum paraît bien attaché aux globulines, et non aux sérines.

Dans plusieurs expériences témoins, nous nous sommes assurés que l'effet de la solution de globulines était le même que celui du sérum total, qu'une solution de $\text{SO}^4 \text{Na}^2$ n'avait pas seule d'effet neutralisant sur le vaccin.

Par dialyse, nous avons pu d'ailleurs libérer la solution de globulines du sulfate de soude qui avait antérieurement permis leur précipitation. Le seul inconvénient était que la solution de globuline était souillée, parce que nous n'avions pas opéré aseptiquement. Ceci n'entravait pas le pouvoir virulicide des globulines, mais empêchait évidemment d'injecter cette solution à l'animal. Il semble facile de rendre les opérations de dialyse aseptiques.

Au lieu de dissoudre les globulines dans une quantité d'eau salée égale à la quantité de sérum dont nous étions parti, nous avons réussi à les dissoudre dans une quantité d'eau salée deux fois moindre. Ainsi, nous obtenions une solution de taux virulicide deux fois plus élevé — comme nous avons pu le vérifier sur le lapin.

Exemple :

Nous partons de 11 cc. de sérum.

Nous obtenons un précipité que nous dissolvons respectivement dans 5,5 et 11 cc. d'eau salée. Chacune de ces deux solutions est diluée au $1/256^e$ et au $1/128^e$.

Voici les résultats sur le dos du lapin :

Globulines dans 11 cc. sur	V	35 pustules.
256	1.000	
Globulines dans 5,5 cc. sur	V	3 pustules.
256	1.000	
Globulines dans 11 cc. sur	V	3 pustules.
128	1.000	
Globulines dans 5,5 cc. sur	V	11 pustules.
128	1.000	

Nous n'avons pas encore essayé (mais nous nous proposons de le faire), de rechercher si le pouvoir anti-vaccin du sérum est plus particulièrement fixé sur l'euglobuline ou sur la pseudo-globuline 1 du sérum.

Puisque Howe dit que :

— la pseudo-globuline 1 est précipitée par des concentrations de sulfate de soude anhydre comprises entre 16 et 17,4 %,

— l'euglobuline est précipitée par des concentrations de sulfate de soude anhydre comprises entre 13,5 et 14,5 %,

il paraît simple de comparer l'effet virulicide des diverses globulines ainsi séparées sur le vaccin.

A côté de la séparation des albumines du sérum par le sulfate de soude, nous avons essayé de précipiter les globulines par :

- le sulfate d'ammoniaque,
- le gaz carbonique,
- l'acétone.

Nous avons obtenu de bons résultats. Néanmoins, le sulfate de soude nous a paru le procédé le plus simple.

Il est enfin un procédé que nous n'avons pu encore utiliser, c'est l'électrophorèse.

*
**

En résumé, nous retiendrons que le pouvoir anti-vaccin du sérum est attaché aux globulines et qu'il paraît possible, à volume égal, d'obtenir un taux virulicide deux fois plus élevé, en dissolvant le précipité de globulines dans une quantité d'eau salée deux fois moindre que la quantité de sérum sur laquelle on a opéré au départ.

L'effet
du pouvoir anti-vaccin du Sérum
in vitro
in vivo

IN VITRO

Etudier in vitro le pouvoir virulicide est impossible. Que se passe-t-il? Nous n'en savons rien. Nous n'avons aucun moyen de l'objectiver.

Certes, le sérum vaccinal, in vitro, donne lieu à certaines manifestations que de nombreux auteurs ont étudiées. Ainsi Gastinel, dans sa remarquable étude clinique et expérimentale sur les réactions d'infection et d'immunité dans la vaccine et la variole, a mis au point la réaction de fixation du complément; il a montré que cette réaction est précoce et transitoire, alors que le pouvoir virulicide est d'apparition tardive et persiste longtemps. De même certains auteurs auraient objectivé la présence de précipitines : au bout d'un certain temps, on note dans le tube qui contient le mélange vaccin-

sérum une précipitation. Enfin des agglutinines se manifesteraient, au microscope, par l'agglutination des grains de Paschen. Encore qu'il soit loin d'être démontré que tous ces anticorps, ces pouvoirs ne sont pas des manifestations contemporaines ou successives d'un même pouvoir antivaccin, il n'en reste pas moins que rien ne permet de dire qu'ils sont le témoin objectif in vitro du pouvoir virulicide du sérum que nous avons étudié.

Nous ne parlons pas naturellement du pouvoir bactéricide du sérum vaccinal vis-à-vis des germes adventices du vaccin : ainsi que Camus l'a bien montré, ce pouvoir bactéricide du sérum, thermolabile, est totalement différent du pouvoir virulicide, thermostable, et n'est pas plus marqué dans un sérum d'animal vacciné que dans un sérum normal d'animal non vacciné, vis-à-vis des germes adventices du vaccin.

Puisque aucune démonstration directe du mécanisme de l'action virulicide in vitro ne peut être donnée, force nous est donc de conclure d'après ce que, ultérieurement, nous constatons chez l'animal réactif.

A ce propos, deux faits, mis en évidence l'un par Lépine, l'autre par Camus, méritent, nous semble-t-il, d'être soulignés.

Expérience de Lépine

Après avoir, sur le dos du lapin, constaté la non virulence d'un mélange vaccin-sérum, il place ce mélange vaccin-sérum dans un appareil à électrophorèse. Au bout d'un certain temps, il constate que la subs-

tance déposée sur l'une des deux électrodes est douée d'une virulence telle qu'elle fait apparaître des pustules sur le dos du lapin. L'action du courant électrique a donc eu pour effet de dissocier le complexe inactif vaccin-sérum au moins en partie et de faire réapparaître une certaine quantité de vaccin virulent. Le mécanisme de l'action du sérum anti-vaccin sur le vaccin semble donc être plutôt une action de neutralisation que de destruction; l'expression « pouvoir virulicide » paraît donc impropre et semble devoir être remplacée plus justement par l'expression « pouvoir neutralisant ».

Expérience de Camus

Si on injecte dans la veine d'un lapin un mélange vaccin-sérum, non virulent sur le dos d'un autre lapin, on ne constate ultérieurement, chez le lapin qui a reçu l'injection intra-veineuse, ni immunité cutanée, ni pouvoir virulicide de sérum.

Le complexe vaccin-sérum est donc assez stable pour n'être pas dissocié dans l'organisme du lapin; la neutralisation du vaccin par le sérum se présente avec les caractères d'une neutralisation chimique.

Nous même, dans deux expériences, avons essayé de définir quelques caractères de la neutralisation du vaccin par le sérum anti-vaccin.

Première expérience

Prenant un sérum d'effet connu sur le vaccin, au lieu de maintenir sérum et vaccin en contact pendant une heure, nous avons maintenu en contact vaccin et sérum dans des temps variables : 60 minutes, 45 minutes, 15 minutes, 1 minute.

Voici les résultats que nous avons obtenus chez le lapin :

$\frac{V}{1.000}$	étalon :	éruption confluyente.
$\frac{S}{32}$ sur $\frac{V}{1.000}$	60 minutes :	2 pustules.
$\frac{S}{32}$ sur $\frac{V}{1.000}$	45 minutes :	2 pustules.
$\frac{S}{32}$ sur $\frac{V}{1.000}$	30 minutes :	4 pustules.
$\frac{S}{32}$ sur $\frac{V}{1.000}$	15 minutes :	4 pustules.
$\frac{S}{32}$ sur $\frac{V}{1.000}$	1 minute :	30 pustules.

Dans cette expérience, l'action du sérum a paru d'autant plus nette que le contact était maintenu plus longtemps. Le facteur temps a donc paru jouer un rôle dans la neutralisation.

Deuxième expérience

C'est l'expérience que nous avons déjà rapportée à la fin du chapitre Technique.

L'effet de $\frac{S}{64}$ sur $\frac{V}{1.000}$ paraît comparable à

l'effet de $\frac{S}{6}$ sur $\frac{V}{100}$

Malgré des concentrations différentes de vaccin et de sérum, la neutralisation du vaccin par le sérum semble se faire dans les mêmes proportions.

Une dernière question se pose à propos du mécanisme de la neutralisation du vaccin par le sérum; le complément joue-t-il un rôle?

Sur un lapin, nous avons comparé les résultats d'un mélange vaccin-sérum non chauffé et vaccin-sérum chauffé.

Nous avons trouvé :

$\frac{V}{1.000}$	étalon :	confluent.
$\frac{\text{Sérum non chauffé}}{32}$	sur	$\frac{V}{1.000}$ 3 pustules.
$\frac{\text{Sérum non chauffé}}{256}$	sur	$\frac{V}{1.000}$ 25 pustules

<u>Sérum chauffé</u>	sur	<u>V</u>	2 pustules.
32		1.000	
<u>Sérum chauffé</u>	sur	<u>V</u>	32 pustules.
256		1.000	

Le sérum chauffé semble donc avoir la même action neutralisante sur le vaccin que le sérum non chauffé.

En réalité, cette expérience ne signifie rien par elle-même; en effet, nous jugeons l'effet du sérum chauffé sur le vaccin par inoculation à un animal vivant. Cet animal-réactif pourrait fournir le complément nécessaire à la neutralisation.

Mais, rapprochée de l'expérience sur le temps nécessaire à la neutralisation, notre dernière expérience devient plus significative. Si le complément était indispensable à la formation du complexe et était fourni par l'animal-réactif, nous nous retrouverions dans le cas de l'inoculation extemporanée du mélange vaccin-sérum; nous devrions obtenir le même résultat. Or, dans le cas de l'inoculation extemporanée, la neutralisation était beaucoup moins nette que dans le cas du mélange vaccin-sérum chauffé.

Il est donc probable que le complément ne joue pas de rôle dans la neutralisation du vaccin par le sérum anti-vaccin.

IN VIVO

C'est essentiellement le problème de l'immunisation passive.

Un premier point a été bien mis en évidence par Camus — et nous n'y reviendrons pas —, c'est que l'effet de l'injection de sang total (transfusion) n'est pas plus efficace que l'injection de sérum.



L'immunisation passive par le sérum antivaccin peut-être réalisée dans deux conditions :

— ou l'injection de sérum suit la vaccination témoin : c'est l'effet curatif qui sera apprécié;

— ou l'injection de sérum précède la vaccination témoin : c'est l'effet préventif qui sera étudié.

Effet curatif de l'injection de sérum anti-vaccin

Béclere et ses collaborateurs l'ont étudié chez la génisse; ils ont conclu que cet effet curatif était encore notable, quand l'injection était faite 48 heures après la vaccination témoin.

Camus a étudié l'effet curatif du sérum chez le lapin; il aboutit à la conclusion que l'injection de sérum reste sans effet si l'injection est faite seulement vingt heures après la vaccination témoin.

Béclere injectait le sérum dans le tissu cellulaire sous-cutané; Camus dans les veines; l'un comme l'autre utilisaient des doses égales à 1/100 du poids du corps.

Nous avons fait l'expérience suivante, chez le lapin, en ayant recours à l'injection de sérum intradermique :

Sur quatre plages de 20 cm² chacune, nous inoculons du vaccin par grattage.

Une plage est gardée comme témoin.

Dans les trois autres plages, en injection intradermique, nous inoculons du sérum respectivement un quart d'heure, une heure, vingt-quatre heures après la vaccination.

Au bout de six jours, on note :

plage témoin :	éruption confluyente :
S intradermique 1/4 d'heure :	très nombreuses pustules,
S intradermique 1 heure :	éruption presque confluyente,
S intradermique 24 heures :	éruption confluyente.

En somme, un très faible effet empêchant — encore que discutable — est peut-être noté quand l'injection intradermique est faite un quart d'heure après la vaccination.

Certes, dans notre expérience, la dose de sérum injecté était peut-être insuffisante.

Cela n'empêche que les résultats signalés par Camus sont nettement moins favorables que ceux notés par Béclere. Pourquoi?

Nous croyons que cela provient de ce que Camus s'est contenté de compter le nombre de pustules apparues pour juger de l'immunité de la peau. Béclere et ses collaborateurs, au contraire, apprécièrent, en dehors du nombre de pustules, la virulence du contenu des pustules.

Cette méthode paraît plus exacte — et dans de pro-

chaines expériences, nous nous proposons d'y avoir recours.

Effet préventif du sérum anti-vaccin

Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard jugeaient nécessaire chez la génisse l'emploi d'une dose de sérum égale à 1/100 du poids du corps de l'animal, pour obtenir une immunisation presque complète.

Camus a confirmé cette dose chez le lapin; il a de plus montré que les injections répétées de sérum anti-vaccin ne paraissaient pas plus efficaces que l'injection unique d'une forte dose.

Nous avons fait l'expérience suivante, chez le lapin, en ayant recours à l'injection de sérum intradermique.

Un lapin a reçu, sur deux plages, des injections intradermiques de sérum; deux autres plages ont été injectées d'eau physiologique intradermique.

Chacune des quatre plages a été, 1 heure plus tard, inoculée avec du vaccin au 1/1.000; une plage-sérum, une plage-eau physiologique par grattage; une plage-sérum, une plage-eau physiologique par, chacune, 5 scarifications. Le sixième jour, on note :

plage-sérum — grattage de vaccin : 10 pustules,

plage-eau physiologique — grattage de vaccin :
éruption confluyente,

plage-sérum — 5 scarifications de vaccin : 5 pustules,

plage-eau physiologique — 5 scarifications de vaccin : 5 pustules.

Il semble donc que le sérum intradermique ait une certaine action préventive sur l'inoculation de vaccin par grattage, que la méthode des scarifications soit moins précise pour juger de la réceptivité de la peau.



Entre l'étude de l'effet de l'injection de sérum après inoculation de vaccin (effet curatif) et l'étude de l'effet de l'injection de sérum avant l'inoculation de vaccin (effet préventif), il y a place pour une troisième étude, celle de l'effet de l'injection de sérum et de l'inoculation de vaccin *simultanées*. Les résultats de nos recherches à peine ébauchées sur ce point étant contradictoires, nous n'en parlerons pas. C'est pourtant là un chapitre important, qui englobe, croyons-nous, l'étude du phénomène de Brokman; on sait en effet que Brokman, Russel et Mayzner ont montré que l'injection intradermique chez un sujet quelconque d'un mélange sérum anti-vaccin — vaccin — complément, détermine en vingt-quatre heures l'apparition d'une grosse papule, avec infiltration, tandis que l'injection témoin de vaccin seul ne donne qu'une réaction beaucoup plus minime. De telles expériences, Gastinel, Reilly et Mortier l'ont bien montré, peuvent être d'une grande signification dans l'étude des rapports de l'immunité et de l'allergie.

Déductions théoriques

Déductions pratiques

En entreprenant cette étude, nous nous proposons, avons-nous dit, un double but :

But théorique : essayer de préciser certains caractères de l'immunité dans la vaccine ;

But pratique : nous procurer un sérum suffisamment actif, pour espérer qu'il puisse être utile dans l'encéphalite post-vaccinale.

A ce double point de vue, quelles sont les déductions que nous pouvons tirer de nos recherches ?

L'IMMUNITÉ DANS LA VACCINE

Pendant longtemps, nous l'avons noté, la vaccine a été considérée comme une maladie locale ; seules la peau et les muqueuses pouvaient être le siège d'une éruption pustuleuse. Par conséquent, la seule immunité en

jeu était celle de la peau et des muqueuses; à la vaccine, maladie locale, correspondait la notion d'une immunité locale.

Cette théorie a naturellement été abandonnée, le jour où il a été prouvé que l'injection de virus vaccinal par voie sous-cutanée ou intra-veineuse entraînait la survenue d'une immunité de la peau et des muqueuses, sans qu'aucune pustule ait jamais été visible.

Tous les auteurs sont d'accord aujourd'hui pour considérer la vaccine comme une maladie générale, à manifestations cutanées prédominantes certes, mais à laquelle néanmoins participent tous les organes; cette notion est très importante, car elle rapproche ainsi la vaccine de n'importe quelle autre infection et permet de considérer l'étude de l'immunité dans la vaccine comme un chapitre de l'étude de l'immunité en général.



Les théories formulées sur l'essence de l'immunité vaccinale sont innombrables; laissant de côté certaines théories fort ingénieuses, mais ne s'appuyant sur aucun fait précis, schématiquement, on peut considérer qu'elles reposent sur l'étude de deux facteurs objectifs :

- le facteur réceptivité tissulaire,
- le facteur pouvoir virulicide du sérum.

D'où deux grandes théories :

- la théorie de l'immunité tissulaire,
- la théorie des anticorps virulicides.

Les partisans de l'immunité tissulaire considèrent que le fait primordial après vaccination est la disparition de réceptivité du tissu inoculé; pour eux, l'apparition du pouvoir virulicide dans le sérum est accessoire, non indispensable à la réalisation de l'immunité. Ils insistent sur la dissociation de l'immunité cutanée et cornéenne; quand un lapin est inoculé sur la peau, la cornée conserve sa réceptivité au vaccin; inversement, l'inoculation de la cornée n'est pas suivie de la disparition de la réceptivité cutanée; au surplus, ce qui prouve bien que la survenue du pouvoir virulicide du sérum est un fait tout à fait accessoire, c'est qu'il n'est pas rare chez l'homme de constater un pouvoir virulicide du sérum presque inexistant, alors que la non-réceptivité cutanée au vaccin persiste, absolue.

A l'opposé, les auteurs qui défendent la théorie des anticorps virulicides considèrent au contraire l'existence du pouvoir virulicide du sérum comme le fait essentiel; quel que soit le mode d'inoculation du vaccin, la vaccination est toujours suivie de l'apparition du pouvoir virulicide du sérum; même en cas d'inoculation de la cornée, le pouvoir virulicide peut être constaté : s'il est très peu marqué dans ce cas, c'est probablement parce que la quantité de vaccin utilisé est minime. Quant au faible pouvoir virulicide du sérum de sujets dont la non réceptivité cutanée persiste, il n'en existe pas moins. Au reste, l'immunisation passive par injections de sérum anti-vaccin leur paraît la démonstration évidente du rôle essentiel du pouvoir virulicide du sérum dans l'immunité.

A côté de ces deux théories exclusives, une troisiè-

me théorie peut être formulée qui attribue un rôle, dans la réalisation de l'immunité, à la fois aux tissus et aux anticorps virulicides du sérum.

Ainsi, l'immunité générale de l'organisme serait considérée comme la somme des immunités tissulaires; l'immunité de chacun des tissus ne serait pas caractérisée seulement par une non-réceptivité au virus, mais encore par un rôle destructeur sur le virus, un pouvoir virulicide. Deux sortes d'anticorps seraient alors à envisager : des anticorps fixes, cellulaires, attachés aux cellules; des anticorps libres, en circulation dans le sang, ces derniers pouvant n'être que des anticorps cellulaires, secondairement libérés des cellules. Les diverses immunités tissulaires pourraient ne pas être d'apparition contemporaine, ce qui expliquerait certaines dissociations de réceptivité locale; de même la durée de l'immunité de chaque tissu ne serait pas égale, cette durée dépendant peut-être de la constitution histologique et du temps que mettent les cellules de ce tissu à se renouveler. L'état des fibres nerveuses vago-sympathiques de chacun de ces tissus jouerait un double rôle, d'une part sur la libération des anticorps primitivement fixés aux cellules, d'autre part sur le processus de régénération des cellules du tissu.

*
**

Ces théories ont toutes pour bases des faits objectifs incontestables; mais le fait même que chacune d'entre elles paraît défendable montre assez combien grande

est encore la part des hypothèses gratuites. Aussi le champ des recherches est-il encore fort vaste.

Nous croyons à ce propos que l'étude du vaccin tué peut être riche en enseignement.

On a cru, pendant quelque temps, que l'effet du vaccin tué permettait de dissocier réceptivité cutanée et pouvoir virulicide du sérum. L'injection de vaccin tué aurait fait apparaître le pouvoir virulicide du sérum, sans toucher à la réceptivité cutanée à une inoculation ultérieure de vaccin vivant. Nos expériences ont paru nous montrer qu'en réalité si l'injection de vaccin tué fait apparaître un assez fort pouvoir virulicide (toujours moins fort que ne le fait une inoculation de vaccin vivant), en outre, elle entraîne une certaine diminution de réceptivité cutanée à une inoculation ultérieure de vaccin vivant.

Cela est à rapprocher des recherches de Béclere, Chambon et Saint-Yves Ménard chez la génisse, de Camus chez le lapin, sur l'immunisation passive; par injections intra-veineuses de très fortes quantités de sérum ou de sang fortement virulicides, ils réussirent à obtenir une diminution importante de la réceptivité cutanée. Si le pouvoir virulicide du sérum déterminé par injection de vaccin tué avait été aussi fort que celui déterminé par inoculation de vaccin vivant, il eût été curieux que la réceptivité cutanée ne soit pas parallèlement diminuée. A égalité du taux virulicide des deux sérums, on comprend mal comment l'effet sur la réceptivité de la peau de l'animal d'un sérum étranger injecté dans ses veines puisse être supérieur à l'effet de son propre sérum. Quelle que grande que soit la quantité de sérum

transfusée, elle ne peut atteindre la totalité du sérum de l'animal, c'est-à-dire non seulement sérum du sang, mais aussi sérum de la lymphe, des espaces lymphatiques et intercellulaires. Au surplus dans le cas de l'injection de vaccin tué, c'est l'animal qui élabore son propre pouvoir virulicide; dans le cas de la transfusion, l'animal ne fait que recevoir passivement un pouvoir virulicide étranger. Il aurait été curieux que l'effet de ce pouvoir virulicide exogène ait un effet sur la réceptivité de la peau supérieur à un même pouvoir virulicide endogène.

Il semble donc qu'on peut admettre que l'injection de vaccin tué a un effet à la fois sur la réceptivité cutanée et le pouvoir virulicide du sérum, c'est-à-dire sur les deux facteurs objectifs sur lesquels repose notre notion de l'immunité dans la vaccine.



Ce qui paraît particulièrement digne d'intérêt dans le vaccin tué, c'est qu'il permet d'obtenir une troisième sorte d'immunité, intermédiaire à l'immunité passive par injection de sérum virulicide et à l'immunité active par inoculation de virus vivant.

En effet, cette immunité déterminée par le vaccin tué est différente de l'immunité passive, puisque c'est l'animal lui-même qui activement réalise son immunité, et non qui la subit passivement.

Mais elle est cependant différente de l'immunité active provoquée par le virus vivant, puisque dans ce cas n'intervient pas le développement du virus dans l'orga-

nisme; au point de vue expérimental, cette troisième méthode d'immunisation a l'avantage, sur l'immunisation par virus vivant, de permettre l'introduction de la notion de dose de matière vaccinnante injectée, — notion dont il est impossible de tenir compte dans l'immunisation par virus vivant, puisque celui-ci se développe et se multiplie dès qu'il a pénétré dans l'organisme.

C'est pourquoi nous croyons qu'au point de vue de l'Immunologie en général, l'étude comparée de ces trois modes d'immunisation peut être intéressante, car dans la vaccine, plus commodément que dans n'importe quelle autre infection, l'expérimentation est facile et inoffensive, aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

LE SÉRUM ANTI-VACCIN DANS L'ENCEPHALITE POST-VACCINALE

Toutes les études faites autrefois dans un but pratique sur le sérum anti-vaccin avaient pour objet la sérothérapie de la variole; Béchère et ses collaborateurs, Teissier et ses élèves avaient obtenu des résultats relativement favorables, à la condition que les injections soient faites très précocement et à fortes doses (1/100 du poids du corps). Aujourd'hui, en Europe, grâce à la vaccination systématique, la variole a presque complètement disparu (1 à 5 cas authentiques par an en France); aussi l'intérêt du sérum anti-vaccin est-il fort limité; aux Colonies, par contre, il pourrait en certains cas être utile.

Mais une nouvelle maladie est apparue, l'encéphalite post-vaccinale.

Cette affection, presque inconnue en France, a été surtout rencontrée en Hollande, en Allemagne, en Angleterre. Elle s'est développée en véritables épidémies en 1922-23 et 1925-26. Elle paraît actuellement partout en régression : néanmoins, en Hollande, des cas sporadiques sont encore assez fréquemment observés.

L'encéphalite post-vaccinale se rencontre surtout en cas de primo-vaccinations tardives ; ainsi le meilleur procédé de prévention paraît être la vaccination des enfants au cours de la première année, selon les prescriptions légales françaises.

L'importance des réactions locales au cours de la vaccination ne paraît pas en rapport avec la survenue de la maladie.

L'incubation est de dix à douze jours en moyenne ; les premiers symptômes se manifestent de neuf à treize jours après la vaccination.

Le début est en général assez brutal, marqué par de la céphalée, une élévation de la température à 40°, de la somnolence.

Au bout d'un à trois jours, la période d'état est constituée, marquée par :

— une accentuation de la somnolence ;

— des convulsions, parfois des contractures ; les paralysies sont rares ;

— les réflexes sont exagérés ; le signe de Babinski est souvent constaté ;

— il existe des troubles oculaires : strabisme, ptosis ;

— les signes généraux sont sévères : température à 40°, pouls à 120-130, instable.

La ponction lombaire est indispensable à pratiquer pour affirmer qu'il ne s'agit pas d'une méningite à germes connus (pneumocoques, méningocoques) ou même d'une méningite tuberculeuse ou syphilitique.

Dans l'encéphalite post-vaccinale, le liquide est clair, un peu hypertendu; il ne contient pas d'excès d'albumine, en général ne montre pas de réaction lymphocytaire.

Les cultures restent stériles; le Bordet-Wassermann est négatif.

Dans les cas observés en Hollande et en Angleterre, la mort survient dans 50 % des cas, au milieu d'une somnolence qui aboutit au coma, en huit jours.

Si l'évolution se fait vers la guérison, la somnolence s'atténue, la fièvre baisse; la guérison est complète en dix à quinze jours; les séquelles sont exceptionnelles.

Des formes cliniques ont été signalées :

— formes méningées,

— formes atténuées.

Au point de vue anatomo-pathologique, la lésion essentielle consiste en zones de démyélinisation périvasculaire caractéristiques (Perdreau et Pette).

Les travaux entrepris au sujet de l'encéphalite post-vaccinale en Hollande, Allemagne, Angleterre, Autriche, sont extrêmement nombreux; l'étude de l'encéphalite post-vaccinale a été aussi poursuivie en France (Levaditi-Nicolau).

Il semble qu'au point de vue pathogénique, on puisse schématiquement envisager quatres hypothèses :

Première Hypothèse

Il n'y aurait entre la vaccination et la survenue de l'encéphalite qu'une coïncidence. Etant donné la rareté des cas observés en France, c'est l'hypothèse qui semblerait la plus vraisemblable. Mais la connaissance des cas étrangers permet d'éliminer cette hypothèse.

Deuxième hypothèse

L'encéphalite serait due à un virus accidentellement inoculé avec le vaccin.

Cette hypothèse paraît peu probable; en effet, la pustule vaccinale détruit, en se développant, les virus qui peuvent se trouver sur la peau à son contact; ce virus n'est pas contenu dans le vaccin, puisque le même vaccin qui, en Hollande, donnait une encéphalite, ailleurs n'en donnait pas.

Nous n'avons cité ces deux premières hypothèses que pour mémoire; elles sont aujourd'hui généralement abandonnées.

Troisième hypothèse

L'encéphalite serait due à un neurotropisme particulier du virus vaccinal; l'encéphalite serait vraiment vaccinale.

Turnbull, Mac Intosh, Luchscher, Netter défendent cette hypothèse; ils insistent sur le fait que les accidents

éclatent précisément au moment où le virus vaccinal se généralise.

Par contre, Levaditi et ses collaborateurs répondent que les lésions histologiques de l'encéphalite post-vaccinale humaine sont tout à fait différentes de celles de l'encéphalite expérimentale chez le singe, provoquée par le neuro-vaccin.

Au surplus, il est curieux de constater, que des vaccins venant de Suède et de Norvège, où ils n'avaient jamais déterminés d'encéphalites, provoquèrent en Hollande la même proportion d'encéphalites que les vaccins habituellement utilisés.

Quatrième hypothèse

L'encéphalite serait due à un autre germe, dont l'éclosion serait, à la faveur d'une réaction biotropique, déclenchée par la vaccination.

On a pendant quelque temps pensé qu'il pouvait s'agir du virus de l'encéphalite épidémique, de la poliomyélite. Ces hypothèses sont abandonnées.

Il s'agirait plus vraisemblablement d'un virus neurotrope inconnu, peut-être le même que celui des encéphalites survenant après les maladies infectieuses (varicelle, rougeole) ou de la sclérose en plaques aiguë, car, dans toutes ces affections, la lésion histologique est la même, caractérisée par des zones de démyélinisation périvasculaire.



S'inspirant de ces deux dernières hypothèses pathogéniques, surtout de celle qui considère le virus vaccinal comme directement responsable de l'encéphalite post-vaccinale, nombreux sont les auteurs qui ont pensé à employer le sérum anti-vaccin dans le traitement de cette affection : en France, Bécclere, Netter, Troisier; en Hollande, Bastiansee; en Allemagne, Gins. Les uns ont utilisé du sérum provenant d'animaux vaccinés; les autres ont eu recours au sérum humain ou même à la transfusion aux malades de sang prélevé chez des sujets récemment vaccinés. Certains résultats favorables ont été publiés. Aussi Netter, dans la crainte (qui heureusement n'a pas été justifiée par les faits) de voir survenir une épidémie d'encéphalite post-vaccinale en France, avait-il envisagé de conserver en ampoules du sérum humain, prélevé chez des infirmières récemment vaccinées et avait-il exprimé le souhait qu'une réserve importante de sérum d'animaux vaccinés soit établie, qui en cas de nécessité aurait été mise à la disposition des médecins.



A propos de la sérothérapie de l'encéphalite post-vaccinale, nos recherches sur le sérum anti-vaccin nous inspirent les remarques suivantes :

I. — Le sérum anti-vaccin prélevé chez des ani-

maux nous paraît devoir être préféré au sérum humain : en effet, le pouvoir virulicide du sérum animal est toujours beaucoup plus fort que celui du sérum humain.

II. — La sérothérapie doit être mise en œuvre précocement; en effet, chez l'animal, plus le sérum anti-vaccin est injecté tardivement, moins il agit.

III. — Le sérum anti-vaccin doit être employé à hautes doses; en effet, chez la génisse, comme chez le lapin, pour que l'injection du sérum anti-vaccin ait une action empêchante sur la vaccine, il faut que le poids de sérum injecté soit égal au 1/100 du poids du corps.

IV. — Le sérum employé doit être très fortement virulicide.

Nous avons préparé un sérum de génisse, qui, en raison des larges inoculations cutanées de grande quantité de vaccin qui ont été faites à l'animal, est doué d'un fort pouvoir virulicide; ce sérum est réparti en ampoules de 20 cc.; il est conservé à la glacière, à l'Institut Supérieur de Vaccine de l'Académie de Médecine.

A côté de cette réserve de sérum de génisse, des recherches, actuellement en cours, nous permettront d'avoir prochainement à notre disposition une réserve de sérum de cheval, de pouvoir virulicide au moins équivalents.

De ces deux sérums, lequel devrait être employé de préférence? Rien ne permet de conclure par avance. Nous rappellerons toutefois que M. Bécclere considère le sérum de génisse comme moins toxique et mieux toléré par l'homme que le sérum de cheval.

Enfin, par l'emploi de certaines souches de vaccin, par l'utilisation de certains facteurs extérieurs au vaccin (chlorure de calcium, etc...), par l'extraction des globulines, nous essaierons d'augmenter encore le taux du pouvoir anti-vaccin de ces sérums.



Par quelles voies le sérum anti-vaccin devrait-il être administré?

Etant donné qu'il faudrait recourir à de grandes doses de sérum, il est probable que plusieurs voies devraient être utilisées en même temps : injections sous-cutanées, intra-musculaires; l'administration du sérum par goutte à goutte rectal ne serait pas, croyons-nous, à négliger; devrait-on injecter aussi du sérum par voie intra-veineuse, intra-rachidienne? Nous n'en savons rien. Afin de faciliter la neutralisation du virus hypothétiquement fixé sur le système nerveux, l'emploi de l'anesthésie générale, par analogie avec le tétanos, devrait peut-être être tentée.

Mais nous tenons à insister sur le caractère purement spéculatif de ces déductions; elles nous paraissent logiques, mais ne reposent sur aucune expérience personnelle; la raison en est simple : jamais nous n'avons eu connaissance d'un cas authentique d'encéphalite post-vaccinale, confirmée par la ponction lombaire; et pourtant la ponction lombaire est indispensable, pour éliminer une éventuelle méningite à germes connus (Gins).



De toutes façons, dans le traitement de l'encéphalite post-vaccinale, nous croyons que le bon sens prescrit de ne pas s'en tenir à la simple utilisation du sérum anti-vaccin, mais aussi d'avoir recours à une thérapeutique anti-infectieuse banale : salicylate de soude, urotropine en injections intra-veineuses, abcès de fixation. Car, d'une part le caractère véritablement vaccinal de l'encéphalite n'est pas prouvé; d'autre part, même si le virus vaccinal est en cause, la neutralisation par un sérum d'un virus fixé sur le système nerveux est toujours assez problématique.

CONCLUSIONS

Le Sérum Anti-Vaccin a été très complètement étudié pour la première fois par Bêclère, Chambon et Saint-Yves Ménard, qui publièrent les résultats de leurs recherches en 3 Mémoires (1896-1898-1899); ces auteurs définirent, à propos de la vaccine, les caractères différentiels de l'immunité active et de l'immunité passive.



Le pouvoir anti-vaccin du sérum peut être apprécié en faisant agir sur une quantité fixe de vaccin de virulence connue des quantités variables de sérum anti-vaccin, et en étudiant comparativement le nombre de pustules que détermine par inoculation sur le dos du lapin chacun des mélanges.



Le pouvoir anti-vaccin du sérum apparaît chez tous les animaux et chez l'homme après vaccination; il est de taux plus élevé chez les animaux que chez l'homme.



Le pouvoir anti-vaccin apparaît aussi chez l'homme après la variole; il est de taux plus élevé qu'après la vaccination.



Le mode d'inoculation ne paraît pas avoir d'influence notable sur le taux du pouvoir anti-vaccin.



La dose de vaccin inoculé semble jouer un rôle, un pouvoir anti-vaccin plus précoce et plus élevé paraissant correspondre à l'inoculation d'une dose plus forte.



La nature différente du vaccin (dermo-vaccin, neu-

ro-vaccin, vaccin d'œuf) paraît sans influence sur le taux du pouvoir anti-vaccin. L'injection de *vaccin tué* (par chauffage à 38° — un mois) fait apparaître un pouvoir anti-vaccin plus faible que celui déterminé par une dose égale de vaccin vivant ; mais, parallèlement, elle provoque une légère diminution de réceptivité de la peau à une inoculation de vaccin témoin.

*
**

La fièvre, l'injection de chlorure de calcium semblent déterminer une augmentation du taux du pouvoir anti-vaccin. Les effets de l'injection de diverses substances devront être étudiées, afin que soient définies les meilleures conditions d'obtention d'un sérum doué d'un fort pouvoir anti-vaccin.

*
**

Le pouvoir anti-vaccin est attaché aux globulines du sérum, à l'exclusion des sérines ; par précipitation des globulines et redissolution dans une quantité d'eau salée moindre que celle du sérum de départ, on obtient une solution de taux virulicide plus élevé que celui du sérum.

*
**

Pour préciser les caractères de l'immunité dans la

vaccine — et de l'immunité en général — l'étude du vaccin tué paraît particulièrement intéressante : en effet, l'injection de vaccin tué réalise une troisième sorte d'immunisation,

— différente de l'immunisation passive, puisque c'est l'animal qui élabore son immunité ;

— différente de l'immunisation active par inoculation de virus vivant, puisqu'elle introduit la notion de *la dose exacte de matière vaccinante*, ce qui n'est pas le cas de l'injection de virus vivant, puisque celui-ci se multiplie dès qu'il a pénétré dans l'organisme.

*
**

L'emploi du Serum Anti-Vaccin dans le traitement de l'encéphalite post-vaccinale a été proposé par différents auteurs ; jusqu'à présent a été presque exclusivement utilisé le sérum de sujets récemment vaccinés ; mais le sérum anti-vaccin de génisse et de cheval sont doués nous l'avons vu, d'un pouvoir anti-vaccin nettement plus élevé que le sérum humain ; il paraît donc logique de les essayer. La nature à proprement parler vaccinale de l'encéphalite post-vaccinale n'étant nullement prouvée, il conviendra d'ailleurs dans le traitement d'une éventuelle encéphalite post-vaccinale, toute confusion avec une méningite aiguë éliminée par la ponction lombaire, de ne pas s'en tenir au sérum anti-vaccin et d'y associer une thérapeutique anti-infectieuse banale. Seul l'ave-

nir permettra de juger de l'efficacité du sérum anti-vaccin dans le traitement de l'encéphalite post-vaccinale, complication exceptionnelle de la vaccination en France.

Vu le Doyen :

TIFFENEAU.

Vu le Président :

VILLARET.

*Vu et permis d'imprimer
le Recteur de l'Académie de Paris*

ROUSSY

BIBLIOGRAPHIE

A

- ANDREWS. — *Journal of Pathol. and Bact.* 1928, p. 571; 1929, p. 268; 1930, p. 265.
- AMAKO. — *Arch. f. Schiffs — u. Tropenhygiene*, T. 13, 1909.
- ANGELOW. — Cité par Hutyra. et Marek.
- ARNDT. — *Zentralbl. f. Bant.*, T. 47, 1908.
- ARZT u. KERL. — *Wiener Klin. Wschr.*, 1913.
- AUCHE. — *Arch. clin. de Bordeaux*, 1893.

B

- BACHMANN et BIGLIERI. — *C. R. Soc. biol.*, T. 87, 1922, et T. 88, 1923.
- BACHMANN et BIGLIERI (Spanisch). — *Ref. Zentralbl. f. d. ges. Hyg.* T. 14, 1927.
- BARIKINE, W., KOMPANEEZ, ZAKHAROFF et BARIKINE O.
Du virus variolique sélectionné. *C. R. Soc. biol.*, T. 90, 1924.
- BASSET. — *C. rend. Soc. biol.*, T. 94, 1926.
- VAN BASTIAANSE. — *Bull. Acad. de Méd.*, T. 94, 1925.
- BEACH. — *Rev. vét.*, 1923.
- V. BECKER. — *Handbuch der Vakzinationslehre*. Stuttgart, Enke, 1879.

- BECLERE, CHAMBON et SAINT-YVES MENARD. — *Ann. Pasteur*, 1896, 1898 et 1899.
- BECLERE, CHAMBON et SAINT-YVES MENARD et COULOMB. — *C. R. Acad. des Sciences*, T. 129, 1899.
- BECLERE, CHAMBON, SAINT-YVES MENARD et JOUSSET. — *C. R. Acad. des Sciences*, 1898.
- BECLERE, CHAMBON, SAINT-YVES MENARD et COULOMB. — *Bull. Soc. Obstr. Paris*, 1900.
- BECLERE. — *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 1896.
- BECLERE, CHAMBON et SAINT-YVES MENARD. — *Congrès Médecine*, Nancy, 1896.
- BECLERE, CHAMBON, SAINT-YVES MENARD. — *Bull. et Mém. Soc. Hôp. Paris*, 1897.
- BECLERE. — *C. R. Acad. des Sciences*, T. 163, 1916.
- BEHM. — *Ztschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol.*, T. 8, 1882.
- BEINTKER. — *Zentralbl. f. Bakt.*, T. 48, 1909.
- BELIN. — *Compt. rend Soc. biol.*, T. 92, 1925.
- BER. — *Recherches sur pouvoir antivirulent au cours de vaccine expérimentale chez le lapin.* — Thèse, Paris, 1932.
- BERMBACH. — *Zentralbl. f. Bakt.*, T. 49, 1909.
- BESREDKA. — *Bull. Pasteur*, 1922.
- BESSHO. — *Immuni-ierungs und Heilversuche mit Vakzine-serum.* Inaug.-Diss., Bern, 1924.
- BEUMER u. PEIPER. — *Berl Klin. Wschr.* 1895.
- BIELING. — *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, T. 28, 1919.
- BIGLIERI. — *C. R. Soc. de Biol.*, T. 91, 1924.
- BIGLIERI (Spanisch). — *Réf. Zentralbl. f. d. ges. Hyg.*, T. 12, 1926.
- BIZZARRI u. PALMAS. — *Pathologica*, T. 3, 1911.
- BLANC et CAMINCPETROS. — *C. R. Soc. biol.*, T. 88 et 89, 1923.
- BLANC et CAMINOPETROS. — *C. R. de l'Acad.*, T. 178, 1924.
- BLANC et CAMINOPETROS. — *Schweiz. med. Wochenschr.*, 1926.
- BLANC, CAMINOPETROS et MELANIDI. — *Arch. Inst. Past. Hell.*, 1928.
- BLANC et MELANIDI. — *Compt. rend. Soc. biol.*, T. 94, 1926.
- BLANC, MELANIDI et STYLIANOPOULO. — *Compt. rend. Soc. biol.*, T. 94, 1926.
- DE BLIECK u. VAN HEELSBERGEN. — *Tijdschr. voor Dier-geneesk.* 49.

- DE BLIECK u. VAN HEELSBERGEN. — Berl Tierärztl. Wschr., 1923.
- BLUM et BOUTTIER. — Bull. Méd. 1925.
- BOING. — Allgem. med. Zentralztg. 1901.
- BOING. — Volkmann, Sammlung Klin. Vorträge, 774, 1919.
- BOHN. — Handbuch der Vakzination Leipzig, Vogel, 1875.
- BOLLINGER. — Volkmann, Sammlung Klin. Vorträge, 116-1877.
- BORREL. — Ann. Pasteur, 1903.
- BOUSQUET. — Smidt's Jahrb., 1835. — Cité par Huguenin.
- BRIDRE et BOQUET. — Ann. Pasteur, 1913.
- BRINCKERHOFF TYZZER u COUNCILMAN. — Jour. of med. research., T. 14, 1905-6, et The Philippine Journ. of science, 1906.
- BROKMAN, BUSSEL, MAYZNER. — C. R. Soc. Biol., p. 775, 1930.
- BRUYNOGHE. — C. rend. Soc. biol., T. 92, 1925.
- BURCKHARDT. — Deutsch. Arch. f. Klin. Méd. 1879.
- BURNET. — Ann. Pasteur, 1906.
- BURNET et CONSEIL. — C. R. Soc. biol., T. 90, 1924.
- BUSSEL et STANKIEWICZ. — Rev. franç de pédiatrie, T. 2, 1926.

C

- CALMETTE et GUERIN. — Ann. Pasteur, 1901.
- CAMUS. — C. R. Acad. Sciences, mai 1908, juin 1909, juillet 1909, juillet 1912, octobre 1916, juin 1917.
Journal de Physiologie et de Pathol. générale, mai 1908, juillet 1909, juillet 1912, mars 1917, 1917-18.
C. R. Soc. Biologie, juillet 1912, novembre 1916, décembre 1916, décembre 1917.
Volume Jubilé Prof. Richet, 1912.
Bull. Acad. Médecine, octobre 1916, novembre 1916, janvier 1917, mars 1917.
Paris Médical, 1916, n° 48.
- CAMUS. — Presse méd., 1920.
- CARNWATH. — Arb. ad Kaiserl. Gesundheitsamt, T. 27, 1907.
- CASAGRANDE. — Ann. d'Igiène Sperim., T. 19, 1909, et T. 25, 1915.

- CASAGRANDE. — Ann. Pasteur, 1918.
CHAMBON. — Archives Institut Vaccine d. Paris (inédit).
CHANG CHIA PIN u CHEN YU HSIANG. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 31, 1921.
CHAUVEAU. — C. R. Acad. des Sciences, T. 66, 1868.
CHAUVEAU. — Revue de Méd. et de Chir., 1877.
CHAUVEAU, VIENNOIS et MEYNET. — Revue de méd. vét., 1865.
CHAUVEAU. — Bull. Acad. Méd., 1866.
CHEREFEDDIN. — Deutsch. Med. Wschr., 1925.
CONDREA. — C. R. Soc. Biol., T. 79, 1916 et T. 86, 1922.
CONRADI u BIELING. — Dtsch. Med. Wschr., 1916.
CONTE et DUCLERT. — C. R. Soc. de Biol., 1899.
COPLANS. — Journ. of trop. med. and hyg., T. 29, 1926.
COUNCILMAN, MAGRATH u BRINCKERHOFF. — Journ. of med. research., 1904, cité par Paschen.
COURMONT et MONTAGARD. — Journ. de physiol. et de path. génér., 1900.
CRAMER a. BOYCE. — Brit. med. journ., 1893.
CZAPSKI. — Réf. méd. Klinik., 1924, p. 877.

D

- DAHM. — Zentralbl. f. Bakt., T. 51, 1909.
DESNOS. — Virchow-Hirsch., Jahresb. 1871, T. 11.
DORNBLUTH. — Cité par V. Pirquet (1907).
DUCLERT. — Comp. rend. Soc. biol., 1896.
DUCLOUX. — C. R. Soc. biol., T. 72, 1912.
DURAND. — Sérothérapie dans la variole, Thèse Paris, 1907.

E

- EHRlich. — Dtsch. med. Wschr., 1891.
EICHHORN. — Neue Entdeckungen über die prakt. Verhütung d. Menschenblattern usw., Leipzig, 1829. Cité par Süpffe (1914).
EIMER. — Die Blatternkrankheit in pathologischer und sanitätspolizeilicher Hinsicht, Leipzig, 1853.

- V. EINSIEDEL. — Diskussionsbemerkung. Zentralbl. f. d. ges. Hyg., T. 2, p. 558, 1923.
V. EINSIEDEL. — Med. Klinik, 1924.
V. EINSIEDEL. — Zentralbl. f. d. ges. Hyg., T. 10, p. 773 et 776, 1925.

F

- FASQUELLE ANDRE. — Archives Institut Vaccine de Paris (inédit).
FEARNSIDE. — Indian med. Gaz., 1918.
FEARNSIDE a. GIBSON. — The Indian journ. of med. Research, 1920.
FLECKSEDER. — Wiener Klin. Wschr., 1916.
FORCE and BECKWITH. — Journ. of Amer. med. Assoc., T. 65, 1915.
FRANKENSTEIN. — Ztschr. f. Kinderheilk., 32, 1922.
FRANKENSTEIN. — Dtsch. Med. Wschr., 1922.
FREYER. — Zentralbl. f. Bakt., T. 36, 1904.
FRIEDEMANN. — Med. Klinik, 1920.
FROHLICH. — Württemb. med. Korrespondenzbl., 1867.
FURSTENBERG. — Cité par Bohn.
FULLER. — Berl. Tierärztl. Wochenschr., 1924.
FROSCH. — Bericht über die Tätigkeit der Kommission z. Prüfung der Impfstofffrage, Berlin, Springer, 1896.
FUJII. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 33, 1922.

G

- GAILLARDO. — Ann. Pasteur, 1925.
GALLI-VALERIO. — Schweiz. Arch. f. Tierheilk., T. 67, 1925.
GAST. — Schmidts Jahrb. d. Med., T. 183, 1879.
GASTINEL. — Des réactions d'infection et d'immunité dans la vaccine et la variole. Thèse Paris 1913 (G. Steinheil).
GASTINEL. — La vaccine. Infections à germe inconnu, Maloine et fils, Paris, 1921.
GASTINEL. — Bull. Soc. Française Dermat. et Syphil., janvier 1935.

- GASTINEL, REILLY, MORTIER. — C. R. Soc. Biol., p. 474, 1931, p. 509, 1932.
- GAUDUCHEAU. — Bull. Soc. Pathol. exot., T. 9, 1916, T. 10, 1917.
- GETTINGER. — Med. Journ. a record., T. 120, 1924.
- GILDEMEISTER. — Zentralbl. f. d. ges. Hyg., T. 12, 1926.
- GILDEMEISTER. — Arb. a. d. Reichsges. Amt., T. 57, 1926.
- GILDEMEISTER u. HERZBERG. — Dtsch. Med. Wschr., 1925 et 1927.
- GILDEMEISTER u. HERZBERG. — Zentralbl. f. Bakt., Ref., T. 79, p. 377, 1925.
- GINs. — Dtsch. Med. Wschr., 1916.
- GINs. — Ztschr. f. Hyg., T. 82, 1916; T. 89 1919; T. 90, 1920; T. 106, 1926.
- GINs. — Pockenschutz des deutschen Volkes, Berlin, R. Schöetz, 1917.
- GINs. — Ztschr. f. Medizinalbeamte, 1918.
- GINs. — Hyg. Rdsch., 1919.
- GINs. — Berl. Klin. Wschr., 1920.
- GINs. — Med. Klinik., 1922.
- GINs. — Diskussionsbemerkung, Zentralbl. f. d. ges. Hygiene, T. 2, p. 559, 1923.
- GINs. — Klin. Wschr., 1924.
- GINs u. KRAUSÉ. — Ztschr. f. Hyg., T. 100, 1923.
- GINs u. WEBER. — Ztschr. f. Hyg., T. 82, 1916.
- GINZBERG. — Dtsch. Med. Wschr., 1916.
- GOERTTLER. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 38, 1923-24.
- GOODALL. — Amer. Journ. of med. science 1919.
- GORDON. — Med. research. council, London, 1925.
- GRADOJEVITCH. — Agglutinationsversuche bei Variola und Vakzine Inaug. Diss., Bern, 1922.
- GREGORY. — Cité par Tomarkin u. Carrière.
- GROTH. — Ztschr. f. Hyg., T. 92, 1921, et T. 97, 1923.
- GROTH. — Zentralbl. f. d. ges. Hyg., T. 2, p. 554, 1923.
- GROTH. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 36, 1923.
- GRUTER. — Ber. d. ophthalmolog. Gesellsch., Heidelberg, 1910.
- GRUTER. — Arch. f. Augenheilk., T. 70, 1911-12.
- GRUTER. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 35, 1923.

H

- HAALAND. — Med. Klinik., 1905.
- HABETIN. — Wiener Klin., Wschr., 1916.
- HACH. — Ztschr. f. Hyg., T. 104, 1925.
- HADLEY a. BEACH. — Ref. Zentralbl. f. Bakt., T. 62, 1914.
- HAENDEL. — Diskussionsbemerkung. Berl. Klin. Wschr. 1921, p. 1366.
- HAENDEL, GILDEMEISTER u. SCHMITT. — Zentralbl. f. Hyg., T. 85, 1921. Ber. über d. 8. Tagung d. freien Vereinigung. f. Mikrobiologie.
- HALLENBERGER. — Dtsch. Med. Wschr., 1917.
- HALLWACHS. — Ztschr. f. Hyg., T. 69, 1911.
- HAMMERSCHMIDT. — Seuchenbekämpfung, T. 11, 1925.
- HAMMERSCHMIDT u. V. KONSCHIEGG. — Münch. Med. Wschr. 1917.
- HARALAMBOPOULO u. PAPACHRISTOPHILOU. — Rev. de med. vet., d'Alfort, T. 101, 1925.
- HARDE. — C. R. Soc. biol., T. 78, 1915.
- HARDER. — Cité par V. Pirquet (1907).
- HARING u. KOFOID. — Ref. Zentralbl. f. Bakt., T. 53, 1912.
- VAN HEELSBERGEN. — Zentralbl. f. Bakt., T. 84, 1920; T. 89, 1922.
- VAN HEELSBERGEN. — III nation. congress for poultry and rabbitbreeding. Haag., 1925.
- VAN HEELSBERGEN. — Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde, 1925.
- HELLER u. TOMARKIN. — Dtsch. Med. Wschr., 1907.
- HENNEPE. — Berl. Tierärztl. Wschr. 1924.
- HENSEVAL. — C. R. Soc. biol., T. 82, 1919.
- HENSEVAL et CONVENT. — Bull. Acad. méd. de Belgique, 1912.
- HERZBERG. — Arb. a. d. Reichsges., Amt. T. 57, 1926.
- HERZBERG. — Zentralbl. f. Bakt., T. 95, 1925.
- HLAVA. — Ref. Zentralbl. f. Bakt., T. 18, 1895.
- HLAVA u. HONLL. — Wiener Klin. Rdsch., 1895.
- HOEN, TSCHERTKOW u. ZIPP. — Zeitschr. f. Hyg., T. 106, 1926.
- HOFF. — Med. Klinik., 1924.
- HOFFMANN. — Schweiz. Med. Wschr., 1921.
- HOOKER. — Boston med. and surg. journ., T. 193, 1925.

- HOWE. — *Journal of biological chemistry*, 1^{er} nov. 1921, p. 93-109.
- HUGUENIN. — Pocken. Lubarsch. Ostertag : *Ergebnisse d. allgem. Pathologie usw.*, 4 Jahrg., 1897, Wiesbaden, Bergmann, 1899.
- HUON et PLACIDI. — *Comp. rend. soc. biol.*, T. 91, 1924.
- HUTYRA u MAREK. — *Spez. Pathologie u Therapie d. Haustiere*. Jena. Fischer, 1922.

I

- ILVENTO. — *Policlinico*, 1921.
- IMMERMANN. — Variola, Nothnagel, *Spez. Pathologie u Therapie*, T. 4, Wien, Hölder, 1896.
- ISABOLMSKY et GITOWITSCH. — *Zeitsch. f. Imm. forsch.*, T. 57, 1928, p. 152.

J

- JACOBSTHAL. — *Diskussionsbemerkung*. *Zentralbl. f. d. ges. Hyg.*, T. 2, p. 557, 1923.
- JAGGI. — *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, T. 36, 1923.
- JANCOU. — *Compt. rend. Soc. biol.*, T. 86, 1922.
- JANSON. — *Zentralbl. f. Bakt.*, T. 10, 1891.
- JEKI. — *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, T. 40, 1924.
- JOBLING. — *Journ. of Experiment. med.*, T. 8, 1907.
- JOCHMANN. — *Pocken und Vakinationslehre*. Wien und Leipzig Hölder, 1913.
- JONESCO, MIHIAESTI, CIUCA et DRAGOU. — *C. R. Soc. biol.*, T. 79, 1916.
- de JONG. — *Tijdschr. v. vergelijkende Geneesk.*, T. 8, cité par *Bull. Pasteur*, 1923.
- JURGENS. — *Med. Klinik.*, 1920.
- JURGENS. — *Infektionskrankheiten*, Berlin, Springer, 1920.

K

- VAN der KAMP. — Ueber Filtration des Vakzinevirus und Immunisierung mittels Vakzinefiltrats. Dissertation, Bern, 1913.
- VAN de KASTELLE. — Immunité et Complémentbinding bij vaccine. Dissertation Leiden, van Doesburgh, 1915.
- KELSCH. — Rev. d'hygiène, 1908.
- KELSCH, CAMUS et TANON — Bull. Acad. de méd., 1907 et 1908.
- KEYSSELITZ u MAYER. — Arch. f. Schiffs. u Tropenhygiene, T. 12, 1908.
- KINYOUN. — Abstr. of. san. Rep., Washington, 1894. Cité par Sternberg.
- KINYOUN. — Sanit. Reports U. S. Marine Hosp. Service, Washington, 1895.
- KIRSTEIN. — Dtsch. Med. Wschr., 1921.
- KIRSTEIN. — Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., T. 103, 1924.
- KIBKALT u. STOPPENBRINK. — Ztschr. f. Hyg., T. 90, 1920.
- KLEIN. — Münch. Med. Wschr., 1914.
- KNOEPFELMACHER. — Ztschr. f. exp. Pathol. u Therapie, T. 4, 1907.
- KNOEPFELMACHER. — Münch. med. Wschr., 1908.
- KNOEPFELMACHER. — Handbuch Kraus, Levaditi, T. 1, 1908.
- KNOEPFELMACHER. — Med. Klinik., 1910.
- KNOEPFELMACHER. — Wiener Klin. Wschr., 1915.
- KOCH. — Cité par Bohn.
- KOHNO. — Zentralbl. f. Bakt., T. 92, 1924.
- KONDO. — Untersuchungen über die immunisatorischen Beziehungen zwischen Taubenpocken u Vakzine. Inaug-Diss., Bern, 1924.
- KONEW. — Zentralbl. f. Bakt., Ref., T. 40, 1907.
- V. KONSCHIEGG. — Münch Med. Wschr., 1915 et Wien, Klin. Wschr., 1915.
- KRAMER. — Cité dans Zentralbl. f. d. ges. Hyg., T. XII, 1926.
- KRAUS, RANZI u EHRLICH. — Berl Klin. Wschr., 1909.
- KRAUS u TAKAKI. — Med. Klinik., 1925.
- KRAUS u VOLK. — Wiener Klin. Wschr., 1906.
- KRAUS u VOLK. — Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad, Wien. Mathematurwissenschaftl. Abt., T. 116, 1907.

- KRISTENSEN, ANDERSEN, JUNGENSEN u WANDALL. — Acta pathol. et microbiol. scandinav., T. 2, 1925.
KRUMBACH. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 38, 1923.
KRYLOFF. — Zentralbl. f. Bakt., T. 60, 1911.
KUBLER. — Arb. a. d. Kaiserl Gesundheitsamt, T. 14, 1898.
KUHLE. — Münch. Med. Wschr., 1924.
KUHLE. — Monatsschr. f. Kinderheilk., T. 30, 1925.
KUHN. — Gaz. méd. de Strasbourg, 1855.
KUHN. — Strabburger med. Ztg., 1915. Aussi : Hyg. Rdsch., 1919, p. 389.
KULZ. — Arch. f. Schiffs u Tropenhygiene, 1905.
KURODA. — Japan. journ. of dermatol. and urol., T. 26, 1926.
KYRLE u MORAWETZ. — Wiener Klin. Wschr., 1915.

L

- LANDMANN. — Ztschr. f. Hyg., T. 18, 1895.
LAYET. — Traité pratique de vaccination animale, 1889.
LEDINGHAM. — Brit. Journ. of experiment. pathology, T. 5, 1924 et T. 8, 1927.
LEDINGHAM. — Journ. of state med., T. 34, 1926.
LEINER. — Seuchenbekämpfung. Jahrg. 1924.
LEINER u KUNDRATTITZ. — Ztschr. f. Kinderheilkunde, T. 33, 1921.
LEPINE. — C. R. Soc. biol., T. 103, 104, 105. 1930.
LEREBoullet. — Epid. de Strasbourg, 1836.
LEVADITI et NICOLAU. — Ann. Pasteur, 1923.
LEVADITI et NICOLAU. — C. R. Acad. des Sciences, T. 176 et 177, 1923.
LEVADITI. — C. R. Soc. biol., T. 86, 1922; T. 87, 1922; T. 88, 1923, T. 89, 1923; T. 94, 1926, T. 96, 1927; T. 97, 1927; T. 122, 1936.
LEVADITI et NICOLAU. — Le neuro-vaccin. Bull. Méd., 38, 1924.
LEVADITI, HARVIER et NICOLAU. — C. R. Soc. biol., T. 85, 1921.
LIPSCHUTZ. — Zentralbl. f. Bakt., T. 46, 1908.
LIPSCHUTZ. — Geflügelpocke. Handbuch d. pathogenen Protozoen (v. Prowazek), T. I, 1912.
LIPSCHUTZ. — Zentralbl. f. bakt., T. 87, 1922.

- LISBOA. — Mem. inst. Oswaldo Cruz, T. 15, 1922.
LOFFLER. — Zur Immunitätsfrage. Mitteil. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte, T. 1, 1881.
LONS. — Ztschr. f. Hyg., T. 92, 1921.
LOEWENTHAL. — Dtsch. Med. Wschr., 1906.
LOEWENTHAL, KADOWAKI u KONDO. — Zentralbl. f. Bakt., 94, 1925.
LOUBIE. — Gaz. des hôpitaux, 1864.
LUCZSCH. — Med. Klinik., 1924 et 1925.
LUCKSCH. — Schweiz. Med. Wschr., 1925.
LUCKSCH. — Zentralbl. f. Bakt., T. 96, 1925.
LUCKSCH. — Dtsch. Ztschr. f. d. ges. gerichtliche Medizin., T. 7, 1926.
LURIY. — Monatsschr. f. Kinderheilk., T. 33, 1926.
LUSENA. — Boll. dell' istituto sieroterap., Milanese, Fasc. 4/5, 1925 et Fasc. IV, 1926.
LUSENA. — Lo Sperimentale, Jahrg. 79, Fasc. 6, 1925.
LUSENA. — Ztschr. f. Hyg., T. 106, 1926.

M

- MACK a RECORDS. — Cité par Hutyrav et Marek.
MAGRATH a BRINCKERHOFF. — On Experimental variola in the monkey Studies on the pathology and on the Etiology of variola and of vaccinia. Boston (1904).
MANTEUFEL. — Arb. A. d. Kais. Gesundheitsamt, T. 33, 1910.
MARIE. — C. R. Soc. biol., T. 83, 1920.
MARSON. — Cité par Tomarkin et Carrière.
MARTIN. — Journ. of americ. med. Assoc., T. 85, 1925.
MARTIUS. — Arb. a. d. Kais. Ges., Ant., T. 17, 1900.
MARX u STICKER. — Dtsch. Med. Wschr., 1902 et 1903.
MATSUDA. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 41, 1924.
MEDER. — Dtsch. Med. Wschr., 1913.
MEDER. — Hyg. Rdsch., p. 429, 1919.
MENSCHING. — Arch. f. Kinderheilk., T. 68, 1920.
MINERVIN u SCHMERLING. — Zentralbl. f. Bakt., T. 99, 1926.
MIYASHITA. — Ztschr. f. Immunitätsforschung, T. 9, 1911.
MINISTRY of AGRICULTURE and FISHERIES. — Diphterie in poultry (Roup or bird pox). Leaflet N° 138 London, 1925.

- MONTI. — Zentralbl. f. Bakt., T. 16, 1894.
MONTI. — Cité par Súpflé, 1914.
MORAWETZ. — Wiener Klin. Wschr., 1921 et 1922.
MORAWETZ. — Arch. f. Dermatol. u Syphilis, T. 142, 1923.
MORTIER. — Contribution à l'étude de l'allergie vaccinale.
Thèse Paris, 1932.
MOSES. — Memor. Instit. Oswaldo Cruz, 1909.
MUHLENS u HARTMANN. — Zentralbl. f. Bakt., T. 41, 1906.
MULAS. — Ann. d'Igiene speriment., T. 29, 1909.
MURATA. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 40, 1924.

N

- NAKAGAWA. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 39, 1924,
T. 42, 1925.
NAKAMURA a. OTO. — Transact. of the Japan, path. soc.,
T. 14, 1924.
Van NEDERVEEN. — Tijdschr. voor Diergeneesk., 1925.
NEGRETE. — Ref. Zentralbl. f. Bakt., T. 72, 1921.
NEISSER. — Dtsch. Med. Wschr., 1906.
NETTER et URBAIN. — C. R. Soc. biol., T. 92, 1925.
NICOLAU et POINÇLOUX. — C. R. Soc. de biol., T. 91, 1924.
NOBL. — Wiener Klin. Wschr., 1906.
NODAKE. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 41, 1924.
NOGUCHI. — Journ. of Exp. med., T. 21, 1915; T. 27, 1918.
NOVOTNY u SCHICK. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 5,
1910.

O

- OHTAWARA. — Japan med. world., T. 3, Réf. Zentralbl. f.
d. ges. Hyg., T. 4, 1923.
OHTAWARA. — Scient. reports from the government inst. f.
inf. Diseases. Tokyo, T. 1, 1922. Ref. Zentralbl. f. d. ges.
Hyg., T. 6, 1924.
OKAWACHI. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 41, 1924.
ÖSIANDER u FURSTENBERG. — Cité par Bollinger.

P

- PALM. — Arch. f. Gynäkol., T. 62, 1901.
- PANISSET et VERGE. — Compt. rend. Acad. des Sciences, T. 177, 1923, et T. 178, 1924.
- PASCHEN. — Handbuch Kraus et Levaditi, 1 Erg-Band, 1911.
- PASCHEN. — Dtsch. Med. Wschr., 1913 et 1920.
- PASCHEN. — Ref. Hyg. Rdsch., 1919, p. 269.
- PASCHEN. — Zentralbl. f. d. ges. Hyg., T. 2, p. 555, 1923.
- PASCHEN. — Technik d. mikroskop. Untersuchung des Pockenvirus Haudb. d. biolog. Arbeitsmethoden (Abderhalden), 1924.
- PAUL. — Hyg. Rdsch., T. 13, p. 1159, et p. 1167, 1903.
- PAUL. — Wiener Med. Schr., 1915.
- PAUL. — Hyg., Rdsch., 1919.
- PFEIFFER, L. — Die Vakzination, ihre Experimentellen und Erfahrungsgemäßen Grundlagen und ihre Technik, Tübingen, Laupp, 1884.
- PFEIFFER. — Ztschr. f. Hyg., T. 43, 1903.
- PIERY. — Lyon méd., 1900.
- V. PIRQUET. — Wiener Klin. Wschr., 1906.
- V. PIRQUET. — Klinische Studien über Vakzination und vakzinale Allergie, Leipzig u. Wien, Deuticke, 1907.
- PLEHN. — Arch. f. Schiffs u. Tropenhygiene, T. 3, 1899.
- PLOTZ et RENE MARTIN. — Bull. Acad. Médecine, 1936.
- POLITI. — Pediatr. prat., Jahrg. 1, 1924.
- POLLACI. — Policlinico, 1921.
- PONNDORF. — Diskussionsbemerkung. Zentralbl. f. d. ges. Hyg., T. 2, p. 512, 1923.
- PROGULSKI. — Pedjatz. polska, T. 2; Ref. Zentralbl. f. d. ges. Hyg., T. 4, 1923.
- V. PROWAZEK. — Zentralbl. f. Bakt., T. 72, 1914.
- V. PROWAZEK u. de BEAUREPAIRE ARAGAO. — Münch. Med. Wschr., 1908 et 1909.
- V. PROWAZEK u. de BEAUREPAIRE ARAGAO. — Mem. Inst. Oswaldo Cruz, T. 1, 1909.
- V. PROWAZEK u. MIYAJI. — Zentralbl. f. Bakt., T. 75, 1915.
- V. PROWAZEK u. YAMAMOTO. — Münch. Med. Wschr., 1909.

R

- RAYNAUD. — C. R. Acad. des Sciences, T. 84, 1877.
RAYNAUD. — Bull. Acad. Médecine, 1878, p. 878.
RAYNAUD. — Gaz. hebdom. de méd., 1879.
REED. — Cité par Sternberg.
REHNS et CHAUMIER. — Comp. rend. Soc. biol., T. 60, 1903.
REITER. — Zur Richtigen Beurteilung d. Vakzination. München, 1846, cité par Huguenin.
REITER. — Bayrisch. ärztliches Intelligenzblatt, 1872 et 1874.
REMBOLD. — Zentralbl. f. Bakt. T. 18, 1895.
RICKERT. — Magazin f. d. ges. Tierheilkunde, T. 39, 1873.
RISEL. — Hyg. Rdsch., 1905.
RITOSSA. — Pediatria, T. 33, 1925.
DA ROCHA-LIMA. — Chlamydozoen-Strongyloplasmien. Handb. d. pathogenen. Protozoen. Leipzig, Joh. Ambs. Bazth. 1920.
ROGER et WEIL. — Compt. rend. Soc. de biol., 1902
ROLOFF. — Mitteil. a. d. tierärztl. Praxis im preub. Staate Jahrg. 21.

S

- SACCO. — Osservaz. pratiche sul uso del vaiuolo vaccin., Milano, 1901, et Trattato di vaccinazione, 1809.
SAHLI. — Cité par Schneider.
SAITO. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 46, u. 48, 1926, T. 50, 1927.
SALMON. — Compt. rend. soc. biol., T. 88, 1923.
SALVIOLI. — Clin. pédiatr., 1923.
SANFELICE. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 32, 1921.
SATO. — Japan. Journal of dermatol. and urol., T. 25, 1925.
SATO und KURODA. — Japan journ. of dermatol. and urol., T. 26, 1926.
SCHENK. — Die Pocken in allen ihren Beziehungen. Quedlinburg. u Leipzig. Basse 1844.
SCHNEIDER. — Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 38, 1923-24.
SCHNEIDER. — Untersuchungen über die Beziehungen der viruliziden Antikörper zur Vakziheimmunität. Erscheint Zeitschr. f. Immunitätsforsch.

- SEMMER u RAUPACH. — Cité par Hutyra u Marek.
SENFIT. — Berl. Klin. Wochenschr. 1872.
SHIGA u KIL. — Ref. Ztschr. f. Immunitätsforsch., 1910.
SIEBERT. — Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt., T. 37, 1911.
SIMKO. — Ref. zentralbl. f. d. ges. Hygiene, T. 10 1925.
SIMKO. — Jahrb. f. Kinderheilk., T. 108, 1925.
SINGER. — Med. Klinik. 1923.
SION et RADULESCO. — Compt. rend. Soc. de biol., T. 74, 1913.
SOBERNHEIM. — Dtsch. Med. Wschr., 1921 et 1923.
SOBERNHEIM. — Die neueren Anschauungen über das Wesen der Variola und Vakzineimmunität. Weichardts Ergebnisse d. Hygiene, T. 7, 1925.
SOBERNHEIM. — Ch. IV. 3 partie dans : Handbuch der Pockenbekämpfung und Impfung, Berlin 1927.
SOBOTTA. — Allgem. med. Zentralzeitung, 1901.
SOULIE. — Rev. vet., T. 21, 1896.
STERNBERG. — A Manual of Bacteriology, 1892, p. 262.
STERNBERG. — Zentralbl. f. bakt., T. 19, 1896.
STERNBERG u REED. — Trans. Ass. of Americ. Physicians, 1895.
STRAUS, CHAMBON et SAINT-YVES MENARD. — Sem. méd., 1890.
STRAUS, CHAMBON et SAINT-YVES MENARD. — Soc. biol., 1890.
SAINT-YVES MENARD et CHAMBON. — Bull. Acad. Médecine, 1892.
SUGAI. — Zentralbl. f. Bakt., T. 49, 1909.
SUPFLE. — Arch. f. Hyg., T. 68, 1909.
SUPFLE. — Zentralbl. f. Bakt., T. 54, 1910.
SUPFLE. — Das Wesen d. Impfschutzes im Lichte d. Neueren Forschungen. Weichardts Ergebnisse d. Immunitätsforsch. usw., T. 1, 1914.
SUPFLE u EISNER. — Zentralbl. f. Bakt., t. 60, 1911.

T

- TANAKA. — Zentralbl. f. Bakt., T. 32, 1902.
TEDESCHI. — Ref. Zentralbl. f. Bakt., T. 31, 1902.

- TEISSIER, DUVOIR et GASTINEL. — *Compt. rend. soc. biol.*, T. 73, 1912.
- TEISSIER et GASTINEL. — *Rev. Internat. de la vaccine*, T. 3, 1912-13.
- TEISSIER, GASTINEL et REILLY. — *Compt. rend. soc. biol.*, T. 91, 1924.
- TEISSIER et MARIE. — *Compt. rend. Acad. Sciences*, T. 155, 1912.
- THOMAS. — *Publ. health reports*, T. 41, 1926.
- THOMSON u MARSH. — *Scott. med. and Surg. Journ.*, 1897.
- THURSFIELD. — *The Lancet*, 1871.
- TIECHE. — *Korrespondenzbl. f. Schweizer Aerzte*, 1913, 1914 et 1918.
- TIECHE. — *Schweiz. Med. Wschr.*, 1924 et 1925.
- TITECA. — *Etude sur la pratique de la vaccine, ce qu'elle est ce qu'elle devrait être*. Paris, 1885.
- TOMARKIN u CARRIERE. — *Handb. Kolle. Wassermann*, 1913.
- TOMARKIN u SUAREZ. — *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, T. 26, 1917.
- TORIKATA. — *Koktopräzipitinogene und Koktoimmunogene*. Bern, Max Drechsel, 1917.
- TOTH. — *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 1922.
- TOYODA. — *Ztschr. f. Hygiene*. T. 102, 1924.
- TRINCAS. — *Arch. di farmacol. sperim. e scienze aff.*, T. 38, 1924.
- TSUKAHARA. — *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, T. 32, 1921.
- TSURUMI, TOYADA u INOUE. — Cité dans *Zentralbl. f. d. ges. Hygiene*.

U

- UHLENHUTH u BIEBER. — *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, T. 35, 1923.
- UHLENHUTH u MANTEUFEL. — *Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt*, 1923, 33, 1909.
- UNDERHILL. — *Brit. med. Journ.* 1874.
- URBANI. — *Pathologica.*, NR. 324, 1922.

V

- VERGE. — *Rev. gén. méd. vét.*, 1926.
VETTER. — *Arch. d. Heilk.*, 1810, cité par Huguenin.
VIEUCHANGE. — *Bull. Acad. Méd.* 1937.
VOIGT. — *Dtsch. Viertelfahrsschrift f. öffentl. Gesundheitspflege*, T. 15, 1833.
VOIGT. — *Diskussionsbemerkung. Hyg. Rdsch.*, T. 13, p. 1158, 1903.

W

- De WAELE u SUGG. — *Zentralbl. f. Bakt.*, T. 39, 1905.
WALTHARD. — *Schweiz. med. Wochenschr.*, 1926.
WALTHARD. — *Zeitsch. f. hyg.*, T. 107, 1927.
WARLOMONT. — *Traité de la vaccine et de la vaccination humaine et animale*. Paris 1883.
WATANABE. — *Arch. f. Hyg.*, T. 92, 1924.
WHITE. — *Boston med. and surg. journ.*, T. 193, 1925.
WICKENSACK. — *Ein Beitrag zur intrauterinen Imminität*. Inaug. Diss. Göttingen, 1918
WINKLER. — *Klin. Wschr.*, 1923.
WINKLER. — *Ref. Münch. Med. Wschr.*, 1925, NR. 17, p. 709.
WINKLER. — *Dtsch. Med. Wschr.*, 1924 et 1926.
WINKLER. — *Ergeb. d. allg. Pathol. u Pathol. Anat.*, 1926.
WOLF. — Cité par Bohn.
WOLFERT. — Cité par V. Pirquet (1907).
WOLFF. — *Virchows Archiv.*, T. 105, 1886, et T. 112, 1888.
WOLFFBERG. — *Zentralbl. f. d. öffentl. Gesundheitspflege*, 1883 et 1886.
WOODEVILLE. — Cité par Tomarkin et Carrière.
WURTZ. — *Rev. d'hygiène*, 1918.
WURTZ et CAMUS. — *Rev. d'hygiène*, 1914.
WURTZ et HUON. — *Arch. de med. experim.*, T. 26, 1914.
WURTZ et HUON. — *Compt. rend. Acad. des sciences*. T. 163; 1916.

Y

YOKOTA. — Acta dermatol., T. I, Ref Zentralbl. f. d. ges. Hyg.,
T. 6, 1924.

YONEZAWA. — Zentralbl. f. Bakt., T. 92, 1924.

Z

ZAGARI. — L'ufficiale sanitario, 1897. Ref. Zentralbl. f. Bakt.,
T. 22, 1897.

ZEDDA. — Ref. Zentralbl. f. Bakt., T. 40, 1907.

ZIEMANN. — Schutzpockenimpfung in den Kolonien. Bericht
über d. 7. internat. Kongreb. f. Hygiene u Demogr. , T. III,
Berlin, Hirschwald, 1908.

ZOHRER. — Die Vakzination. Wien, 1834, cité par Huguenin.

ZOELLER et BASTOUIL. — Compt. rend. Soc. biol., T. 90,
1924.

ZUELZER. — Berlin Klinik. Wschr. 1872.

ZUELZER. — Zentralbl. f. d. med. Wissenschaft, 1874.

ZURUKZOGLU. — Klin. Wschr., 1927.

ZWICK. — Berl. Tierärztl. Wschr., 1924.

TABLE DES MATIERES

Introduction	1
Historique	3
Technique pour l'appréciation du pouvoir anti-vaccin d'un sérum	13
Le pouvoir anti-vaccin du sérum après vaccination dans les diverses espèces animales et chez l'homme	31
Le pouvoir anti-vaccin du sérum après variolisation chez quelques animaux et après variole chez l'homme	47
Influence du mode d'inoculation du vaccin sur le pouvoir anti-vaccin du sérum	51
Influence de la quantité de vaccin injectée sur le pouvoir anti-vaccin du sérum	63
Influence de la nature du vaccin inoculé sur le pouvoir anti-vaccin du sérum	69
Influence de certaines conditions extérieures sur le pouvoir anti-vaccin du sérum	89

Les caractères du pouvoir anti-vaccin du sérum	97
L'effet du pouvoir anti-vaccin du serum in vitro, in vivo	107
Déductions théoriques, Déductions pratiques	117
Conclusions	133
Bibliographie	137

Société d'Éditions et d'Imprimerie

J. Peyronnet et Cie, Éditeurs

7, Rue de Valois, Paris

